FACULTE DE MEDECINE PARIS - LARIBOISIERE SAINT LOUIS

PARIS VII

Année 1972

137

THESE

pour le

DOCTORAT en MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

Jean FIET

Né le 9 juin 1936 à VIERZON (18)

Pharmacien

Ancien Interne en Pharmacie des Hôpitaux de Paris

Présentée et soutenue publiquement le 1972

ETUDE DES VALEURS DE REFERENCE DU BILAN ELECTROLYTIQUE SANGUIN

Président : Monsieur CANIVET (Professeur)

FACULTE DE MEDECINE PARIS - LARIBOISIERE SAINT LOUIS

PARIS VII

Année 1972

THESE

pour le

DOCTORAT en MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

Jean FIET

Né le 9 juin 1936 à VIERZON (18)

Pharmacien

Ancien Interne en Pharmacie des Hôpitaux de Paris

Présentée et soutenue publiquement le 1972

ETUDE DES VALEURS DE REFERENCE DU BILAN ELECTROLYTIQUE SANGUIN

Président : Monsieur CANIVET (Professeur)

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

ETUDE DES VALEURS DE REFERENCE DU BILAN ELECTROLYTIQUE SANGUIN

-=-=-=-=-=-=-=-

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543517_0084

A MONSIEUR LE PROFESSEUR J. CANIVET

Médecin des Hôpitaux

Qui m'a accueilli dans son Service en me faisant bénéficier de ses grandes connaissances cliniques et biologiques, et me fait le très grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse.
Qu'il veuille bien trouver ici le témoignage de ma très vive reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR M-L. GIRARD

Professeur de Biochimie appliquée à la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université René Descartes

Pharmacien-Chef de l'Hôpital Lariboisière.

Qui a bien voulu m'accepter dans son Service de la Faculté comme Enseignant et Chercheur ;
Qu'il veuille bien accepter l'expression de mon respectueux et fidèle dévouement.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGE C. DREUX

Pharmacien-Chef et Directeur du Laboratoire Central de l'Hôpital Saint-Louis.
Directeur de l'U.E.R. de Biologie Humaine et Expérimentale de l'Université René Descartes.

Je lui suis très reconnaissant pour l'aide efficace qu'il m'a apportée au cours de la réalisation de ce travail.
Son sens de l'organisation, sa réussite dans la création d'une Equipe de Biologistes qu'il sait animer et diriger, ses qualités humaines, sont pour moi un exemple.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGE R. DIDRY

Dont l'amitié et les conseils m'ont beaucoup aidé pour la partie statistique de ce travail.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGE M. BAILLY

Qui m'a fait profiter de ses connaissances étendues dans le domaine du contrôle de qualité et des valeurs de référence.

JE REMERCIE VIVEMENT MONSIEUR LE DOCTEUR REVIRON,
DIRECTEUR DE LA BANQUE DU SANG DE L'HOPITAL
SAINT-LOUIS AINSI QUE SES COLLABORATEURS QUI
NOUS ONT FOURNI LES PRELEVEMENTS DE SANG.

A TOUS MES COLLEGUES ET AMIS DE L'HOPITAL SAINT-LOUIS

Le PROFESSEUR AGREGE G. CATHELINEAU

Le DOCTEUR Ph. PASSA, Chef de Clinique - Assitant

Les Attachés de Biologie : G. BACHARD, J-P. BARTHELEMY,
B. BOUSQUET, R. JULIEN,
J-G. LEMELAND et A. MICHAUX

Les Internes en Pharmacie : J-P. AUBRY, Ph. AUDOYER,
F. AB DER HALDEN, Ph. BAETZ,
M. BARBE, E. CUNIN, G. DELUBAC,
G. DUBOS, J-P. HACHE, J-M. LAUNAY,
G. MARTINOT, D. RAICHVARG,
N. SCAGLIOLA et Y. TILLET

Les Techniciens et Agents hospitaliers du Laboratoire Central de Biochimie

Dont les conseils et l'aide m'ont été très précieux.

A TOUS MES ANCIENS CAMARADES D'INTERNAT

A MES PARENTS

A MA FEMME

A MES ENFANTS

A MES AMIS

En témoignage de profonde affection.

TABLE DES MATIERES

Pages

INTRODUCTION

Premier Chapitre : DEFINITIONS ET METHODES

I - Qu'entend-on par valeurs normales ou valeurs de référence ? 5

II- Valeurs "normales" rapportées dans la littérature. 7

III- Techniques utilisées. 9

IV- Population de référence. 19

Deuxième Chapitre : VALEURS DE REFERENCE

I - Mode de calcul des valeurs de référence. 20

Exemple de calcul de la moyenne et de l'écart type du sodium. 32

II- Résultats obtenus. 35

III- Critiques des résultats obtenus 35

1) Sodium

SMA 6/60 et Il 143

SMA 6/60 et Auto analyseur I

2) Potassium 41

3) Bicarbonates 42

4) Chlorures 43

IV - Variation des valeurs de référence en fonction de l'âge et du sexe. 43

Troisième Chapitre : VARIABILITES ANALYTIQUES ET BIOLOGIQUES QUALITE DES TECHNIQUES

I - Précision des dosages : variabilité analytique 47

II- Exactitude des dosages. 53

Pages

III - Variabilité biologique. 60

IV - Influence de la précision sur l'intervalle des valeurs de référence. 62

V - Différence significative entre deux dosages. 67

VI- Appréciation de la qualité des techniques analytiques. 68

CONCLUSIONS 74

INTRODUCTION

Les valeurs admises généralement comme "Normales" du bilan électrolytique sanguin sont les suivantes : Sodium 142 mEq °/₀₀, Potassium 5 mEq °/₀₀ , Calcium + Magnésium 7 mEq °/₀₀ , Protides 16 mEq °/₀₀ , Chlorures 103 mEq °/₀₀ , Bicarbonates 27 mEq °/₀₀ . Ce sont les normales de GAMBLE (1).

Les écarts très fréquents observés entre ces "Normales" et les valeurs obtenues au cours de bilans électrolytiques effectués chez des sujets indemnes de toute affection et non traités nous ont conduit à penser que ces normales devaient être révisées.

C'est pourquoi nous avons entrepris une étude statistique des éléments du bilan électrolytique portant sur unepopulation de donneurs de sang afin de pouvoir en dégager des valeurs "Normales" ou plutôt des valeurs de référence.

Les dosages ont été réalisés à l'aide de techniques modernes, très répandues dans les laboratoires de biochimie et les services de réanimation.

PREMIER CHAPITRE

DEFINITIONS ET METHODES

I. - QU'ENTEND-ON PAR VALEURS NORMALES ET VALEURS DE REFERENCE ? - VALEURS DE REFERENCE OBSERVEES, VALEURS DE REFERENCE BIOLOGIQUES .

A la notion de valeurs "normales" s'est substituée aujourd'hui celle de valeur de référence, la notion de normalité étant trop absolue compte tenu des multiples paramètres qui interviennent dans la détermination de ces valeurs qui ne peuvent donc s'appliquer qu'à une population définie. De plus, seuls des calculs statistiques,incluant un certain pourcentage d'erreurs, peuvent être appliqués dans cette étude et c'est seulement avec un certain degré de probabilité qu'on peut ranger une valeur dans un intervalle de référence ou hors de cet intervalle.

Les valeurs de référence des éléments du bilan électrolytique sont les valeurs des dosages effectués sur une population de sujets apparemment sains, une population de donneurs de sang par exemple.

Nous définirons une zone normale de variation ou intervalle de référence qui contiendra 95 % de cette population.

Cet intervalle de référence ou intervalle observé est un intervalle apparent qui dépend à la fois de l'échantillonnage de la population de référence et de l'erreur provenant de la technique utilisée au laboratoire.

En supposant que l'on parvienne à éliminer l'erreur analytique, cet intervalle de référence observé représenterait l'intervalle de référence vrai ou biologique de la population qui englobe les variations chez un même individu (en fonction de son régime alimentaire, de ses conditions de vie...) et les variations entre les différents individus de la population de référence (sexe, âge ...). Nous déterminerons cet intervalle de référence vrai ou biologique de la population de donneurs de sang.

Les différences que l'on rencontre d'un auteur à l'autre dans la littérature quant aux déterminations des valeurs normales observées, ne sont expliquées que partiellement par la qualité de l'échantillonnage.

Il faut tenir compte, même dans des conditions techniques voisines, de la qualité de l'analyse, de l'appareillage utilisé, du mode d'étalonnage ; c'est-à-dire tenir compte de l'exactitude et de la précision des méthodes utilisées.

Les valeurs normales ou de référence , antérieures trouvées dans la littérature ne sont pas utilisables par le clinicien (2) ; en effet, les technologies ont évolué, se sont perfectionnées, l'exactitude et la précision se sont en général améliorées ; de nouvelles normales apparentes, de nouvelles valeurs de référence doivent donc être déterminées, c'est l'objet du présent travail qui concerne les principaux paramètres du bilan électrolytique plasmatique.

II. - VALEURS "NORMALES" RAPPORTEES DANS LA LITTERATURE.

Mis à part GAMBLE (1) dont les valeurs "normales" établies il y a plus de 15 années sont reproduites et présentées sous forme de diagramme dans presque tous les manuels traitant de l'équilibre hydrominéral, de nombreux auteurs ont déterminé leurs "normales" (tableau 1).

Ces déterminations ont été effectuées le plus souvent sur une population de donneurs de sang à l'aide de techniques manuelles n'ayant pas la précision des techniques automatiques actuelles (8).

Les dosages ont été généralement réalisés sur du sérum et non sur du plasma provoquant ainsi deux types d'erreur : d'unepart la latence nécessaire à la formation du caillot risque d'entraîner une concentration par évaporation, d'autre part, le taux du potassium est différent dans le sérum et dans le plasma.

Plusieurs auteurs, W. PANNALL (3), Y. WYNN (4), T. PELEIDERER (5), L. GIFFORD, M. GAMBINO (6), s'accordent pour trouver des kaliémies supérieures dans le sérum à celles trouvées dans le plasma, la différence atteignant 0,1 à 0,7 mEq selon les auteurs.

L.B. ROBERTS (7) en 1967 a établi des valeurs de référence dans des conditions techniques se rapprochant des nôtres. Il a utilisé des Autoanalyseurs Technicon [x] pour l'analyse du sérum dans une population de 400 donneurs de sang. Un contrôle de qualité fût effectué à l'aide d'un sérum de contrôle du commerce afin que les valeurs déterminées soient comparables d'une semaine à l'autre.

Plusieurs auteurs : E. COTLOVE, E. HARRIS, G.Z. WILLIAMS, D. S. YOUNG, M.R. STEIN, P. KANNOFSKY, G. SHAKARJI (8), ont déterminé sur 68 sujets prélevés chaque semaine

---

[x] Technicon DOMONT France

pendant 12 semaines, les normales ainsi que les différentes composantes des variances analytiques et biologiques.

Auteurs	Sodium	Potassium	Chlorures	Bicarbonates	Urée	Créatinin
J.L. GAMBLE (1)	142	5	103	27		
L.B. ROBERTS (7)	134-143	3,6-4,8	98-107		0,19-0,43	
D.J. BRYAN (9)	131-141	3,6-4,7	97-108	26-35	0,17-0,49	
R.D. ALLEN (10)	135-147	3,6-4,8	101-109	18-30	0,16-0,44	
J.A. OWEN (11)	134-149	3,5-4,9	90-107	18-29	0,15-0,47	
D.H. CURNOW (12)	136-148	3,6-4,8	98-107	23-30	0,19-0,48	
A.F. MOHUN (13)	128-146	3,4-5,1	95-108			
M.W.D'HALLORAN (14)	133,6-143,6	4,6	95-109	22-30		
W. JEANNERET (15)	137-142	4,1-5,6	97-107			
C.GYLLENSWARD (16)	121-143	3,6-5	97-108			
E. COTLOVE (8)	135-143	3,5-4,7	100-109	23,5-31		
P.M.G. BROUTHTON (17)	136-143	3,7-4,7	100-107	24-32	0,19-0,41	
R.ZENDER (23)						♂ 5,3-11 ♀ 5,6- 8
C.DREUX (24)						♂ 7-13 ♀ 5,5-1

TABLEAU 1

III. - TECHNIQUES UTILISEES

Le bilan électrolytique plasmatique comprend généralement les dosages suivants : Sodium, Potassium, Chlorures, Bicarbonates, Protides totaux, urée, créatinine auxquels sont ajoutés parfois la mesure de l'hématocrite et la recherche des corps cétoniques.

Tous ces éléments excepté les protides, l'hématocrite et les corps cétoniques ont été l'objet de notre étude.

A - Dosage du sodium et du potassium plasmatiques

Le sodium et le potassium sont dosés par photométrie de flamme ; d'une part par analyse en flux continu à l'autoanalyseur Technicon, d'autre part, manuellement au photomètre de flamme Il 143.

a) Principe de la photométrie de flamme.

Lorsqu'on nébulise une solution de chlorure de sodium et de chlorure de potassium dans une flamme, les atomes de sodium et de potassium sont excités, les électrons $\bar{e}$ passent sur les couches périphériques des atomes et gagnent ainsi de l'énergie. Lors du retour des électrons $\bar{e}$ sur les couches initiales, l'énergie absorbée est libérée avec émission de radiations électromagnétiques de longueurs d'ondes bien déterminées et caractéristiques du sodium et du potassium ; l'intensité de ces radiation est proportionnelle au nombre d'atomes présents.

b) Description succinte d'un photomètre de flamme

Le photomètre de flamme se compose des éléments suivants :

un système d'aspiration avec pulvérisateur, un brûleur, un système optique pour isoler la lumière monochromatique d'une longueur d'onde déterminée, une photocellule et un système indicateur.

L'aspiration et la pulvérisation sont réalisées par l'air comprimé ; la flamme est produite par la combustion du butane ou du propane. La lumière monochromatique est sélectionnée par des filtres. L'intensité lumineuse produite par l'excitation des atomes de sodium et de potassium est appréciée grace à des photocellules. Le signal électrique résultant est amplifié et envoyé sur un galvanomètre.

Les photomètres de flamme modernes comportent en plus des filtres et cellules pour le sodium et le potassium, des filtres et cellules pour le lithium, élément qui sera introduit dans toutes les solutions à doser mais à concentration constante. Cet étalon interne a pour but de placer les dosages à l'abri des fluctuations de la source d'excitation, des variations de la flamme et du nébulisat. On mesure ainsi constamment le rapport des intensités d'excitation de l'élément à doser etdu lithium.

L'appareillage adapté à cette méthode du standard interne est formé de deux photomultiplicateurs d'électrons, montés en opposition et qui reçoivent au même instant, l'un la radiation du lithium et l'autre la radiation du constituant à doser. Un dispositif potentiométrique réglable rétablit l'équilibre entre les deux forces électromotrices opposées et compare les deux intensités d'émission, par l'intermédiaire d'un milliampèremètre fonctionnant comme appareil de zéro.

c) Appareillages utilisés

Trois photomètres de flamme différents ont été utilisés pour les dosages

- un photomètre de flamme Il 143
- un photomètre de flamme Technicon type 2
- un photomètre de flamme Technicon type 4

Ces appareils présentent les particularité suivantes.

Photomètre Il 143 *

Le brûleur est alimenté par du propane.
Les résultats des dosages sont affichés sur des compteurs digitaux.
Les solutions étalons et les solutions à doser contiennent du lithium à même concentration (méthode de l'étalon interne).
Un seul étalon est nécessaire, l'appareil a une réponse linéaire dans la gamme des concentrations de sodium et du potassium que l'on peut trouver dans les liquides biologiques.
Une dilution au $\frac{1}{200}$ des sérums est réalisée soit manuellement soit automatiquement à l'aide d'un diluteur automatique I l 144 branché sur la chambre d'atomisation (c'est dans cette version que nous utiliserons le photomètre de flamme I l 143).

L'étalon conseillé par le fabricant est un étalon aqueux constitué par une solution de chlorure de sodium et de chlorure de potassium.

Photomètres de flamme Technicon

Identiques dans leurs principes aux photomètres de flamme I l 143.

Le photomètre type II est alimenté par un mélange de propane et d'oxygène et le type IV par de l'air comprimé et du butane ou du propane.

R. DELHOMME et Cie 30, boulevard Saint-Jacques PARIS XIVème

La flamme de ce photomètre est parcourue par un flux continu de solution déprotéinisée ; cette déprotéinisation réalisée pardialyse évite ainsi la calcination dans la flamme de protéines du sérum.

Le photomètre type IV qui équipe le SMA 6/60 possède des performances supérieures au photomètre type II, en particulier sa reproductibilité est meilleure permettant ainsi de travailler aisément à une cadence de 60 échantillons par heure.

B - Dosage des chlorures (Autoanalyseur I et SMA 6/60)

Les chlorures forment un composé soluble, non ionisé avec les sels mercuriques.

En présence de thiocyanate mercurique, il y a libération d'ions $S\,C\,N^-$ qui réagissent sur les ions ferriques pour former un complexe rouge de thiocyanate ferrique.

On mesure l'intensité de la coloration à 480 nm (18).

C - Dosage des bicarbonates (Autoanalyseur I et SMA 6/60)

Le gaz carbonique provenant des carbonates et bicarbonates est libéré en milieu acide. Le CO_2 libéré et le CO_2 dissous sont séparés soit grâce à un débulleur (Autoanalyseur I) soit par passage à travers une membrane siliconée.

Le CO_2 est reçu soit dans une solution tampon contenant de la phénolphtaléine (Autoanalyseur I) soit dans une solution faiblement alcaline contenant du rouge de crésol comme indicateur coloré de pH (SMA 6/60).

Dans le premier cas on mesure une décoloration de phénolphtaléine, dans le second une coloration du rouge de crésol.

La lecture s'effectue à 550 nm (technique Autoanalyseur I) (18) et à 420 nm (SMA 6/60).

D - Détermination de l'urée (SMA 6/60)

L'urée, en solution acide et oxydante réagit avec la diacétyl monoxime. La présence de thiosemicarbazone et d'ions ferriques intensifie la coloration.

Après développement de la coloration à 90° C, son intensité est mesurée au photocolorimètre à 520 nm.

E - Détermination de la créatinine (SMA 6/60)

La créatinine en présence d'acide picrique et en milieu alcalin donne une coloration orangée (réaction de Jaffé) (20). Les protéines sont éliminées par dialyse.

Les dosages ont été effectués selon une, deux ou trois techniques simultanément. (Fig. 1 et 2)

- Sodium, potassium : SMA 6/60, Autoanalyseur I et I 1 143 associé au diluteur I 1 144
- Chlorures et bicarbonates : SMA 6/60 et Autoanalyseur I
- Urée et créatinine : SMA 6/60

Le photomètre de flamme I 1 143 associé à son diluteur est particulièrement bien adapté au dosage au "coup par coup" du sodium et du potassium en urgence.

L'autoanalyseur I, tel que nous l'avons utilisé, permet le dosage simultané sur le même prélèvement de quatre

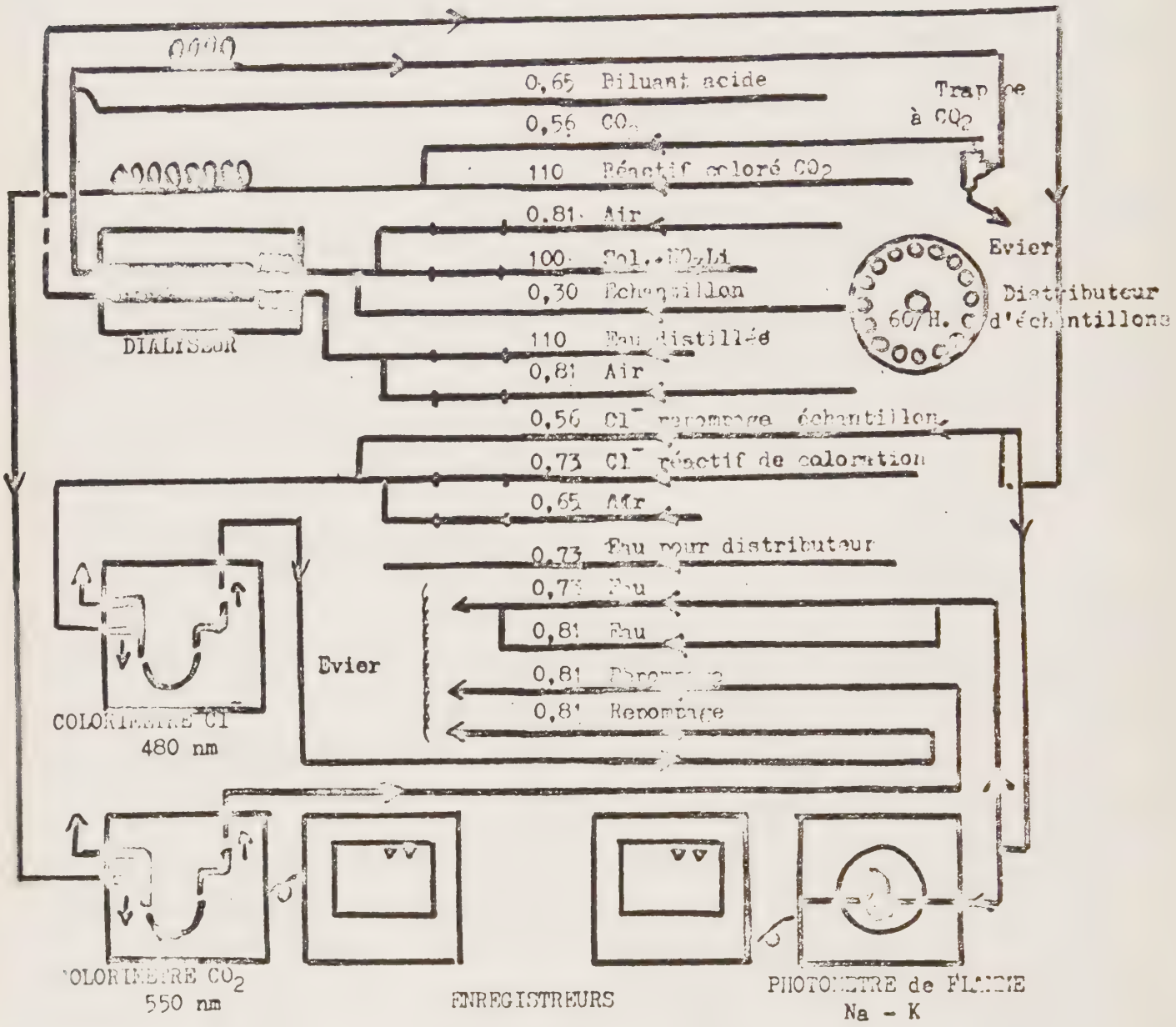


DIAGRAMME DES FLUX - AUTOANALYSEUR I - ELECTROLYTES

- Figure 1 -

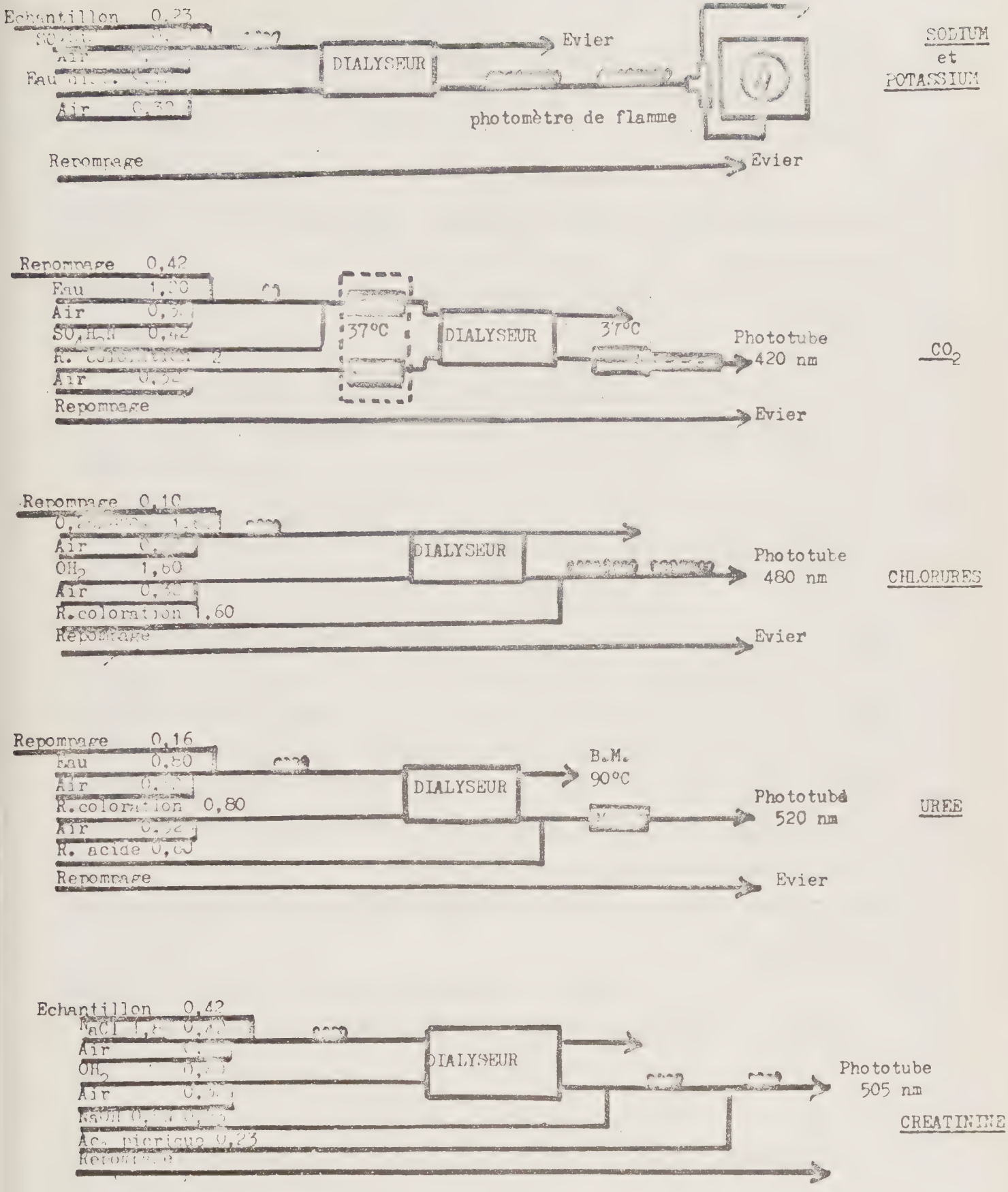


DIAGRAMME DES FLUX S.M.A. 6/60

- Figure 2 -

paramètres : sodium, potassium, chlorures, bicarbonates ; les plasmas des malades sont dosés par rapport à une gamme de solutions aqueuses standard.

Le SMA 6/60 permet le dosage simultané et séquentiel de 6 paramètres : sodium, potassium, chlorures, bicarbonates, urée et créatinine.

L'étalonnage est réalisé à l'aide d'un seul sérum de référence.

L'autoanalyseur Technicon est bien connu à l'heure actuelle, mais nous le décrirons néanmoins brièvement.

Il comporte les modules suivants : distributeur d'échantillons, pompe proportionnante, dialyseur, photomètre de flamme, photocolorimètre, bain-marie, enregistreur.

Très succintement le déroulement des dosages s'effectue de la manière suivante : les échantillons sont déposés dans les godets du distributeur, une pompe proportionnante multicanaux fonctionnant en continu fait avancer les échantillons l'un après l'autre ainsi qu'un certain nombre de flux de réactifs dans le circuit analytique. Les flux des échantillons et le flux des réactifs se rencontrent dans des bobines de mélange ; il s'ensuit généralement le développement d'une coloration dont l'intensité est lue dans un photocolorimètre muni d'une cuve à flux continu. Les résultats s'inscrivent sous forme de pics sur le papier d'un enregistreur.

Une solution du sérum arrive également dans la flamme d'un photomètre de flamme d'où émission d'une lumière également enregistrée.

Des bulles d'air segmentent continuellement le flux des échantillons et des réactifs en mouvement, assurant ainsi l'intégrité de l'échantillon et prévenant toute contamination.

Les échantillons inconnus et les étalons connus sont traités d'une manière absolument identique.

En quoi diffère le S M A 6/60 de l'autoanalyseur I ? (21) (22)

Les signaux s'inscrivent sur l'enregistreur non plus sous forme de pics mais sous forme de courbe en cloche avec un plateau dont l'enregistreur ne prélève qu'une fraction.

Un programmateur explore successivement la réponse électrique de la cellule des différents canaux de dosage et cela six fois par minute.

Toutes les 10 secondes s'inscrit un résultat d'un des différents paramètres, dans l'ordre sodium potassium, chlorures, bicarbonates, urée et créatinine ; un sérum différent est dosé chaque minute.(Fig. 3)

L'ensemble doit être phasé, c'est-à-dire que chaque mesure photométrique doit être à son plateau lorsque le canal est exploré ; on procède ainsi à des réglages pour que les différents dosages arrivent dans leurs canaux de mesure respectif avec un décalage de 10 secondes ; on y parvient en diminuant la longueur des connexions.

Les dosages sur SMA 6/60 sont "linéarisés", le déplacement de l'aiguille de l'enregistreur étant en relation linéaire avec la concentration.

L'étalonnage, ou plus exactement le réglage des pentes de chaque droite d'étalonnage, se ramène donc à un ajustage, au début d'une série d'analyses, du zéro de l'échelle des valeurs sur les réactifs et, périodiquement, à un contrôle du réglage de la valeur élevée, pour les différents paramètres étudiés, en faisant appel à un sérum de référence dont les concentrations en ces paramètres sont connues.

- Figure 3 -

Les résultats des dosages s'inscrivent directement, en concentration, sur un papier précalibré.

L'étalonnage du SMA 6/60 nécessite donc un seul "étalon" protéique, alors que l'étalonnage de l'Autoanalyseur I requiert 5 à 6 étalons aqueux, l'établissement de courbes d'étalonnage puis le décriptage des courbes.

IV - POPULATION DE REFERENCE

Notre population de référence est constituée par des donneurs de sang des deux sexes, âgés de 20 à 60 ans.

Ces donneurs sont sélectionnés à la suite d'un examen clinique avec prise de la T A, détermination de l'hématocrite et d'un interrogatoire où ils affirmaient n'être atteints d'aucune des affections suivantes : cardiaque, pulmonaire, digestive, neurologique, paludisme, allergie, diabète. Ils reconnaissent ne pas avoir eu d'ictère dans les deux années qui précèdent. Les donneurs sont à jeun depuis la veille au soir, le café ou le thé sans lait est toléré. Le don du sang (300 à 400 ml) a lieu entre 10 h et 11 h 30, puis 15 ml de sang sont recueillis sur héparine dans des tubes en verre qui sont aussitôt transportés au laboratoire où ils sont traités immédiatement comme les autresprélèvements provenant des différents services d'hospitalisation.

1 340 prélèvements de donneurs nous sont ainsi parvenus pendant la période du 1er octobre 1971 au 30 janvier 1972 à raison de 10 à 20 prélèvements par matinée.

DEUXIEME CHAPITRE

VALEURS DE REFERENCE

I - MODE DE CALCUL DES VALEURS DE REFERENCE

Nous définirons comme intervalle de référence celui dans lequel se situent 95 % des valeurs de notre population de donneurs de sang.

Les résultats des dosages de chaque paramètre du bilan électrolytique sont groupés en différentes classes dont nous calculons les effectifs absolus, cumulés et cumulés relatifs.

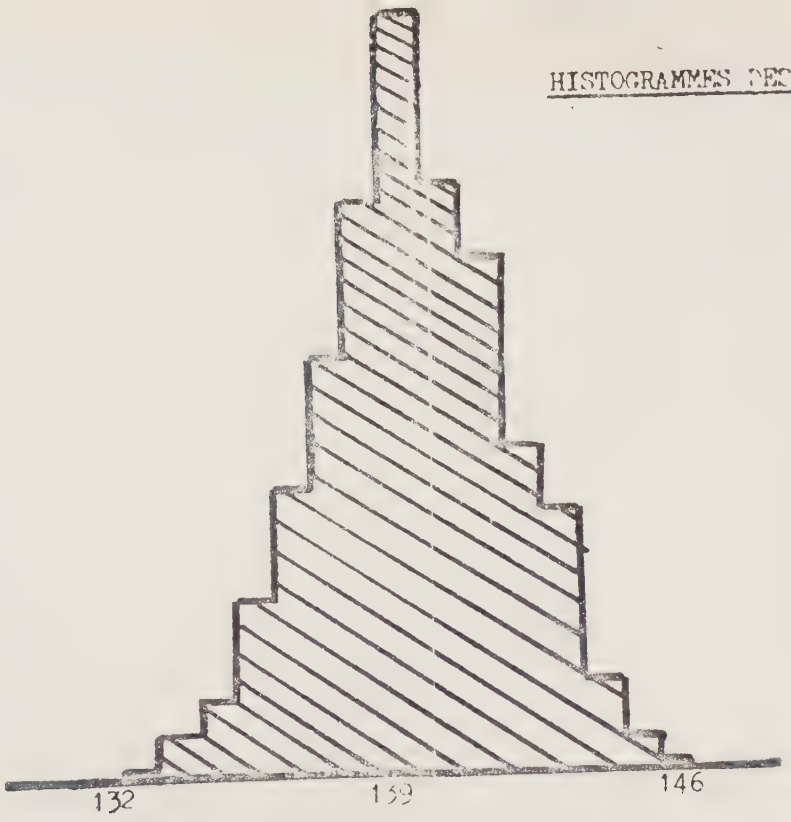
Ces derniers nous permettent de tracer les histogrammes de fréquence et les droites de Henry.

Les histogrammes de fréquence s'obtiennent en traçant sur du papier graphique ordinaire des rectangles qui ont pour base sur l'axe des abcisses les intervalles de classe et pour ordonnée les effectifs correspondants absolus. (fig. 4 à fig. 8)

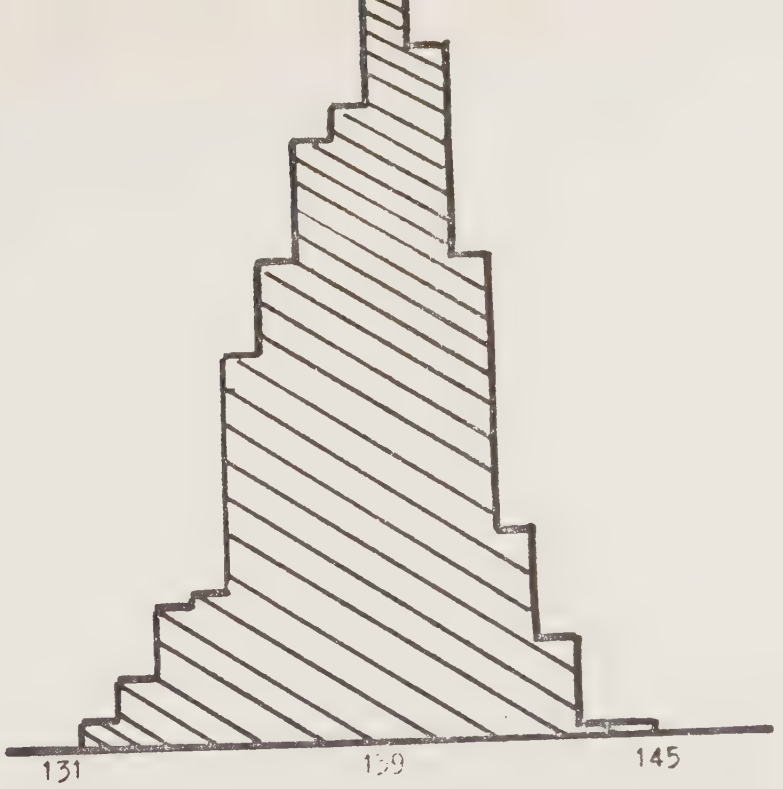
Les droites de Henry sont tracées à l'aide de papier "probabilité" en portant en abcisse les valeurs des limites de classe et en ordonnée les effectifs cumulés relatifs correspondants. (fig. 9 à fig 1

On obtient des droites indiquant une répartition statistique normale gaussienne avec le sodium, le potassium, les

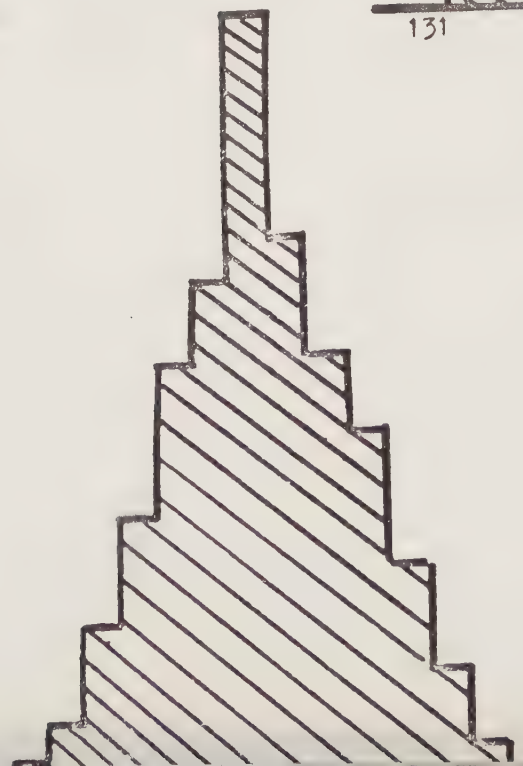
HISTOGRAMMES DES FREQUENCES ABSOLUES



NATREMIES mEq/l. S.M.A. 6/60



NATREMIES mEq/l. Autoanalyseur I

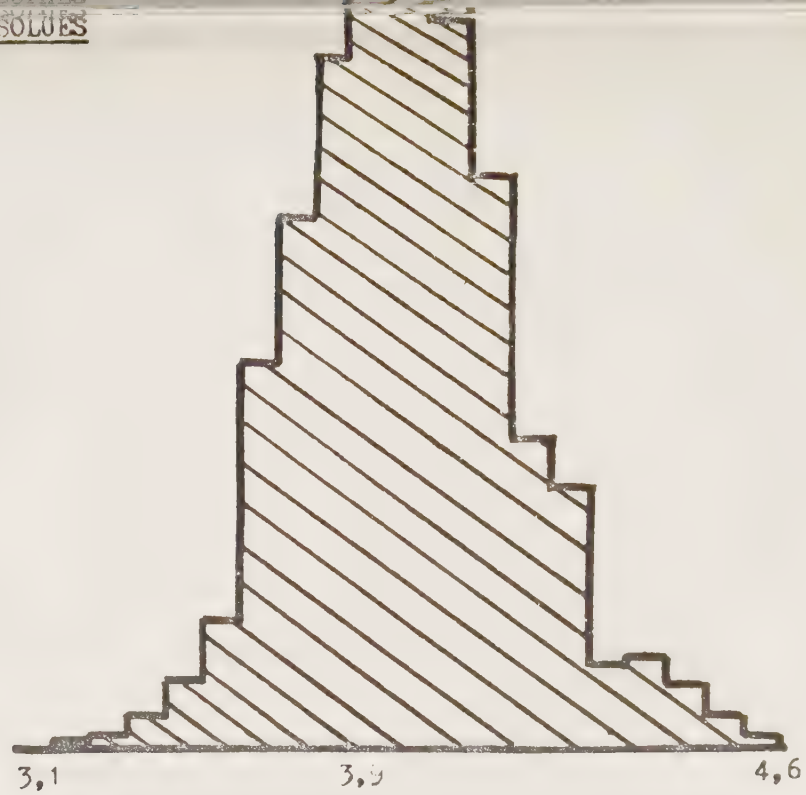


NATREMIES mEq/l. Photomètre II 143

Fig. 4

HISTOGRAMMES DES FREQUENCES ABSOLUES

KALIEMIES mEq/l. S.M.A. 6/60



KALIEMIES mEq/l. II 143

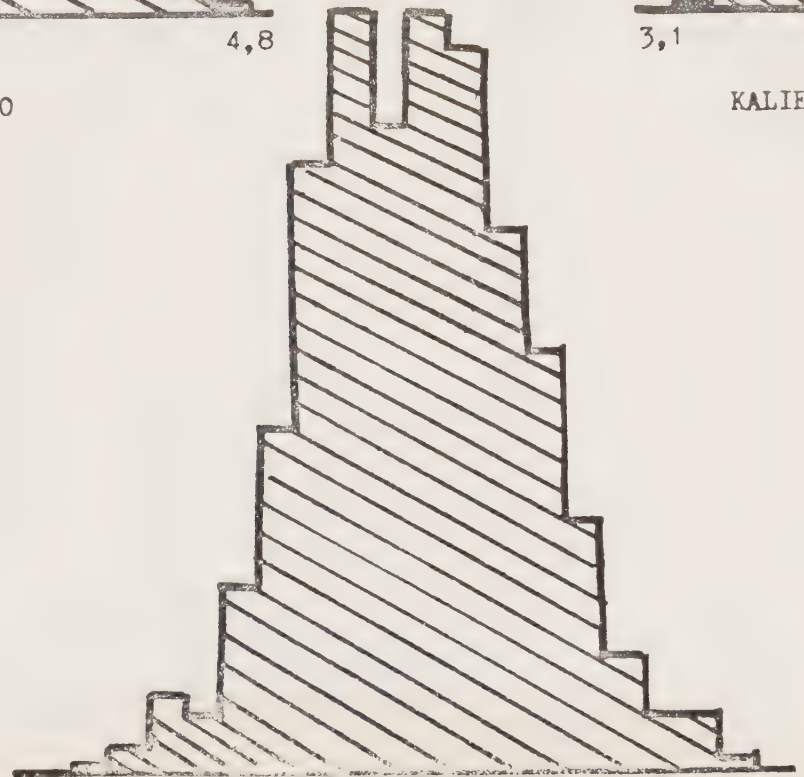
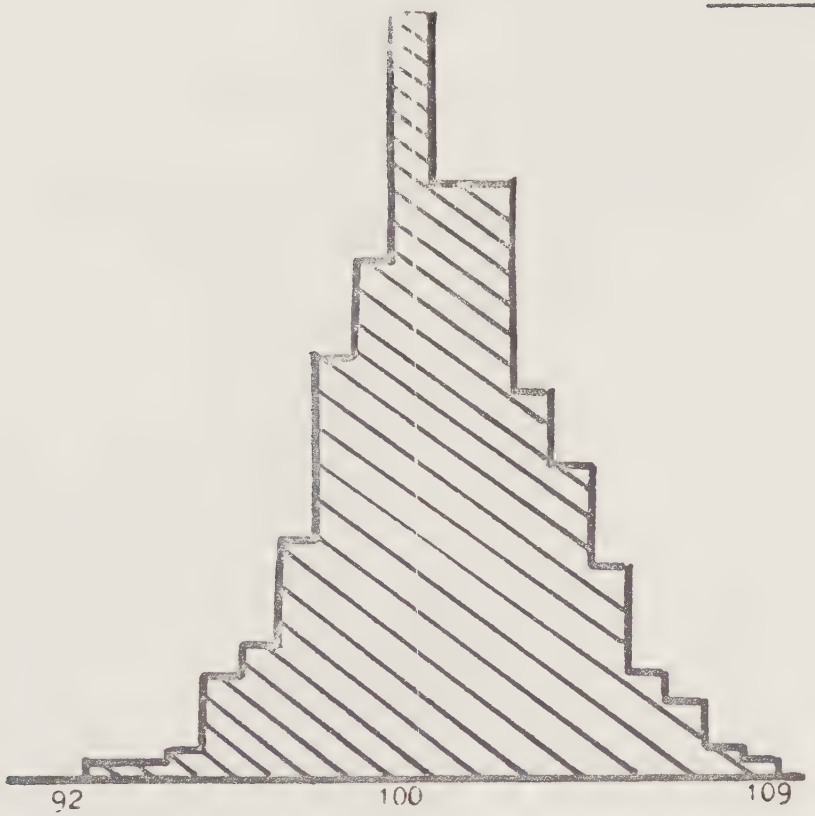


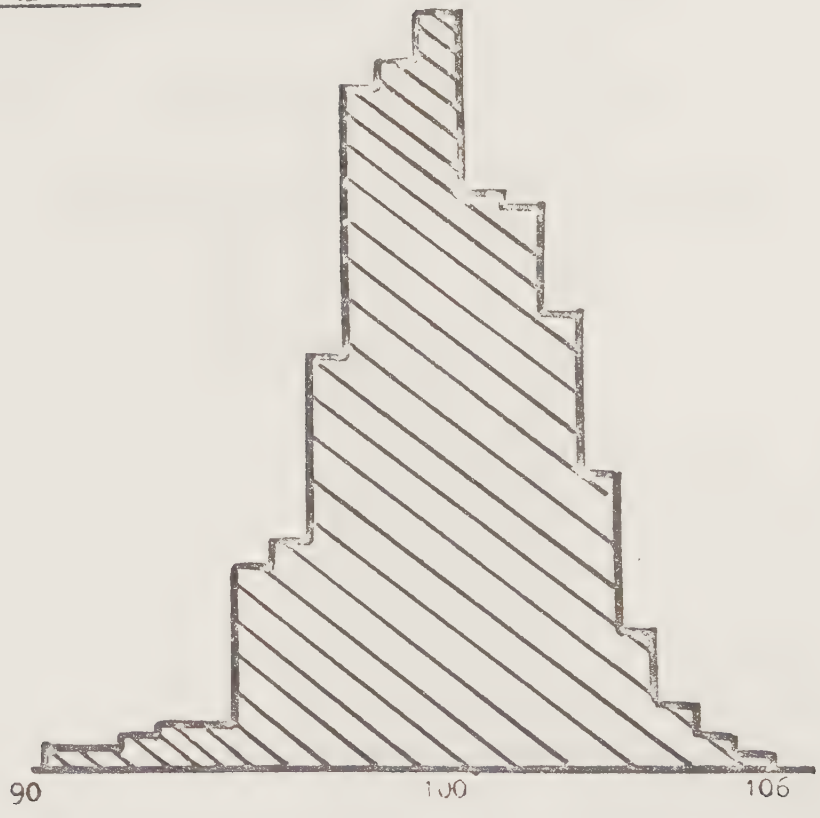
Fig. 5

KALIEMIES mEq/l. Autoanalyseur I

HISTOGRAMMES DES FREQUENCES ABSOLUES



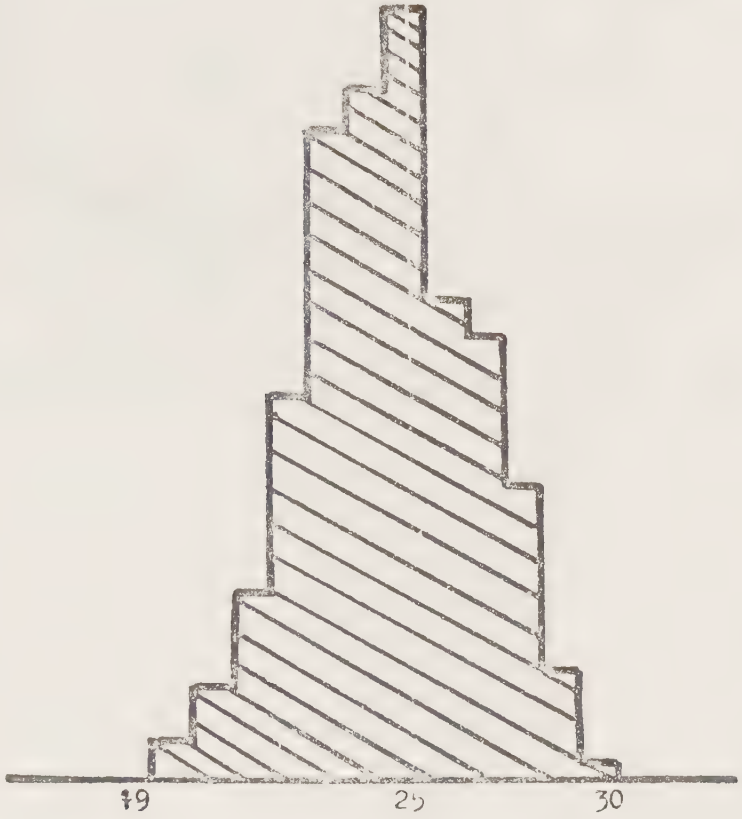
CHLORURES mEq/l. S.M.A. 6/60



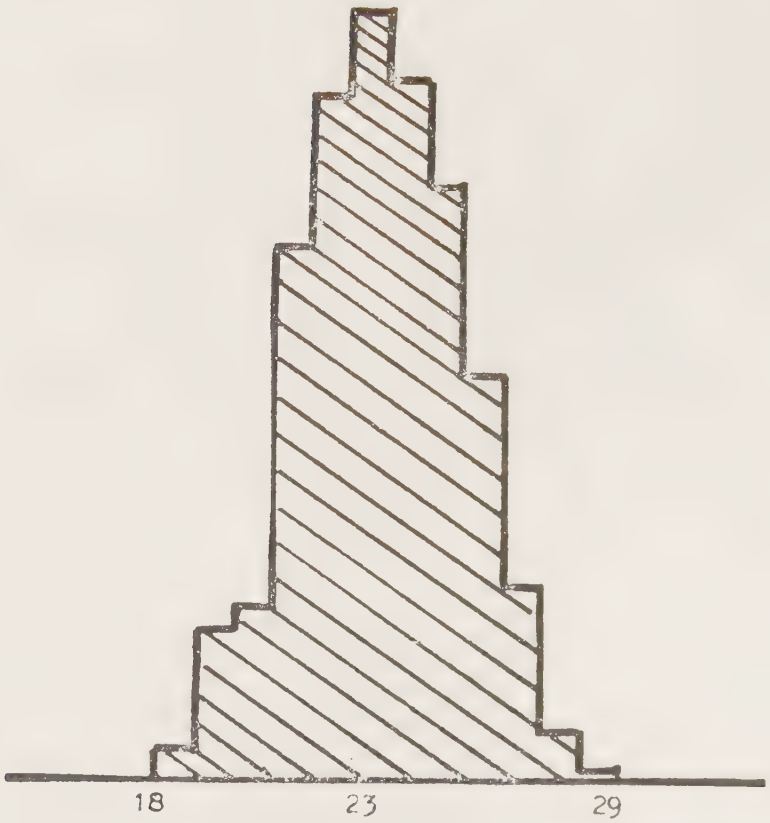
CHLORURES mEq/l. Autoanalyseur I

Fig. 6

HISTOGRAMMES DES FREQUENCES ABSOLUES



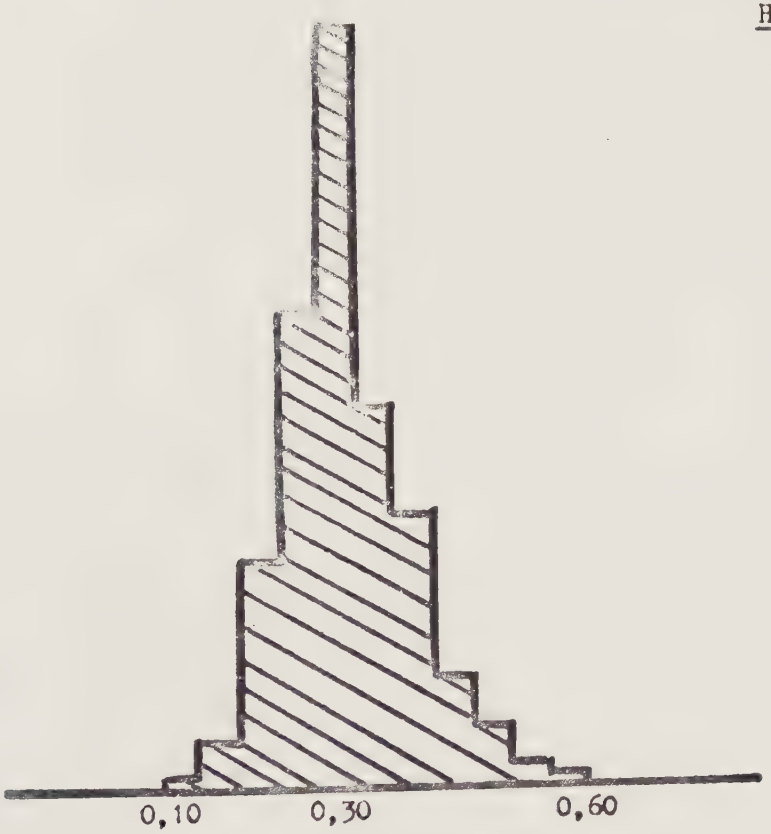
BICARBONATES mEq/l. S.M.A. 6/60



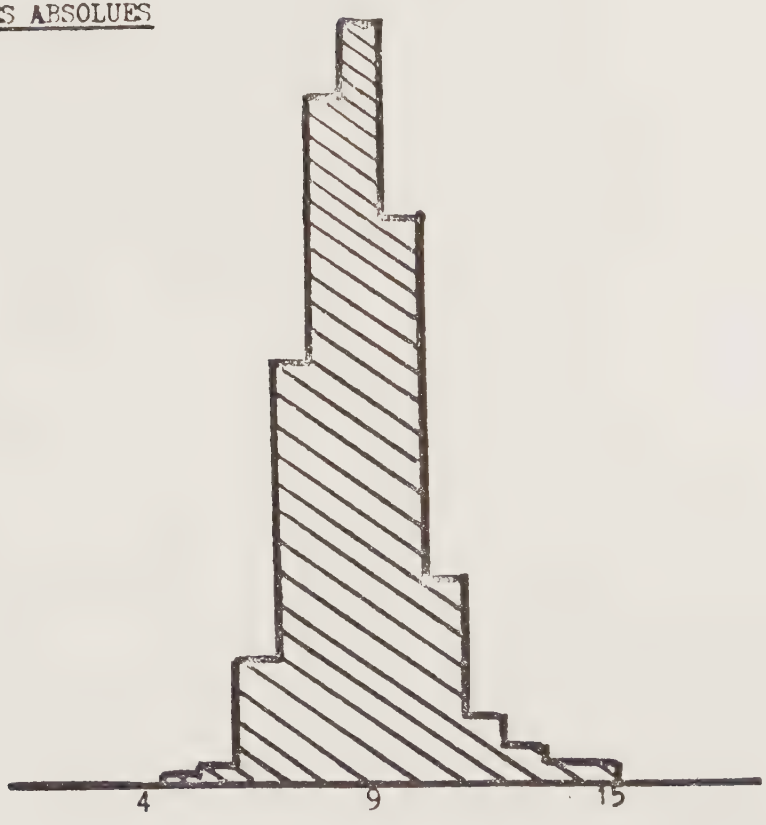
BICARBONATES mEq/l. Autoanalyseur I

Fig. 7

HISTOGRAMMES DES FREQUENCES ABSOLUES



UREE g/l. S.M.A. 6/60



CREATININE mg/l. S.M.A. 6/60

Fig. 8

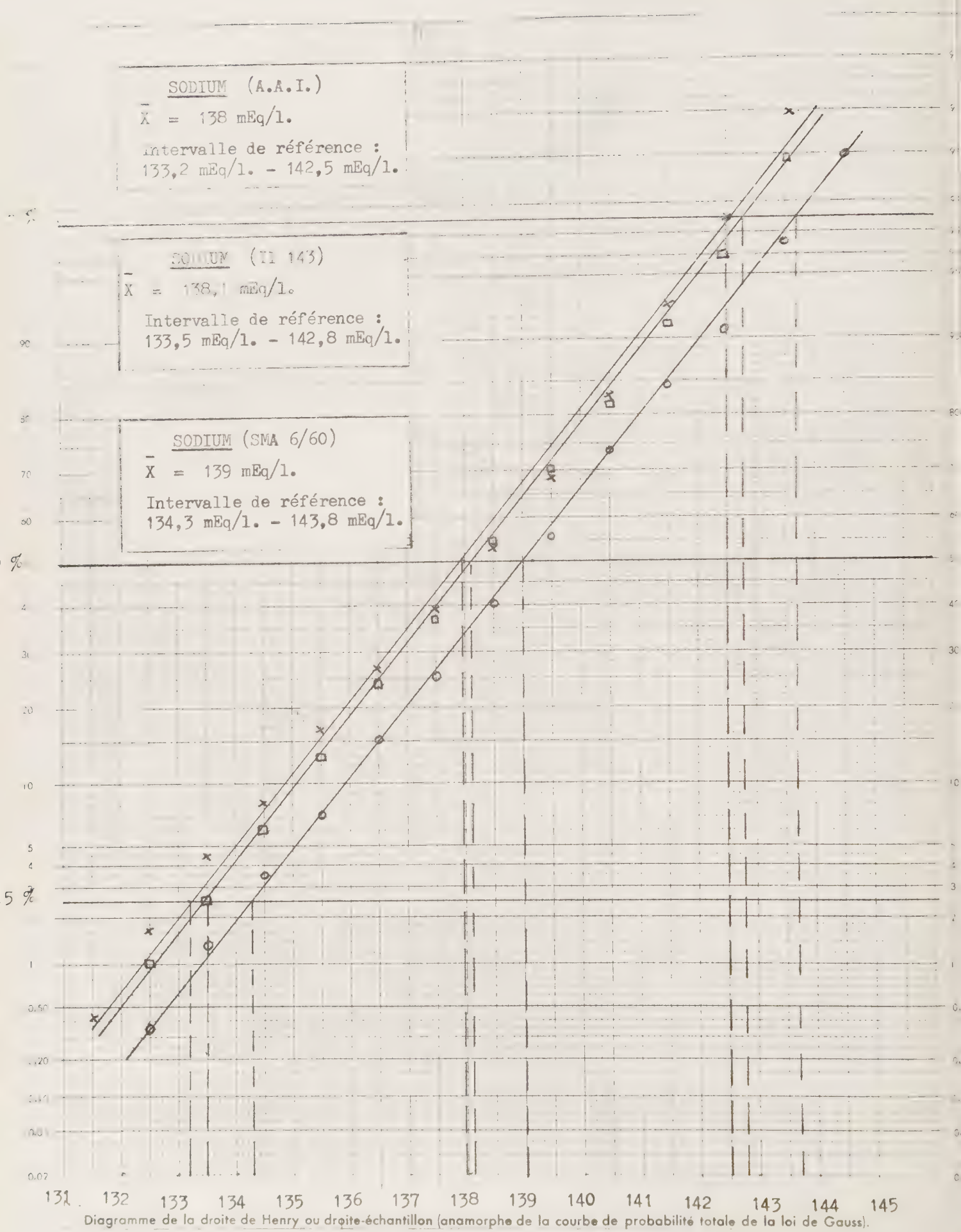


Diagramme de la droite de Henry ou droite-échantillon (anamorphe de la courbe de probabilité totale de la loi de Gauss).

Fig. 9

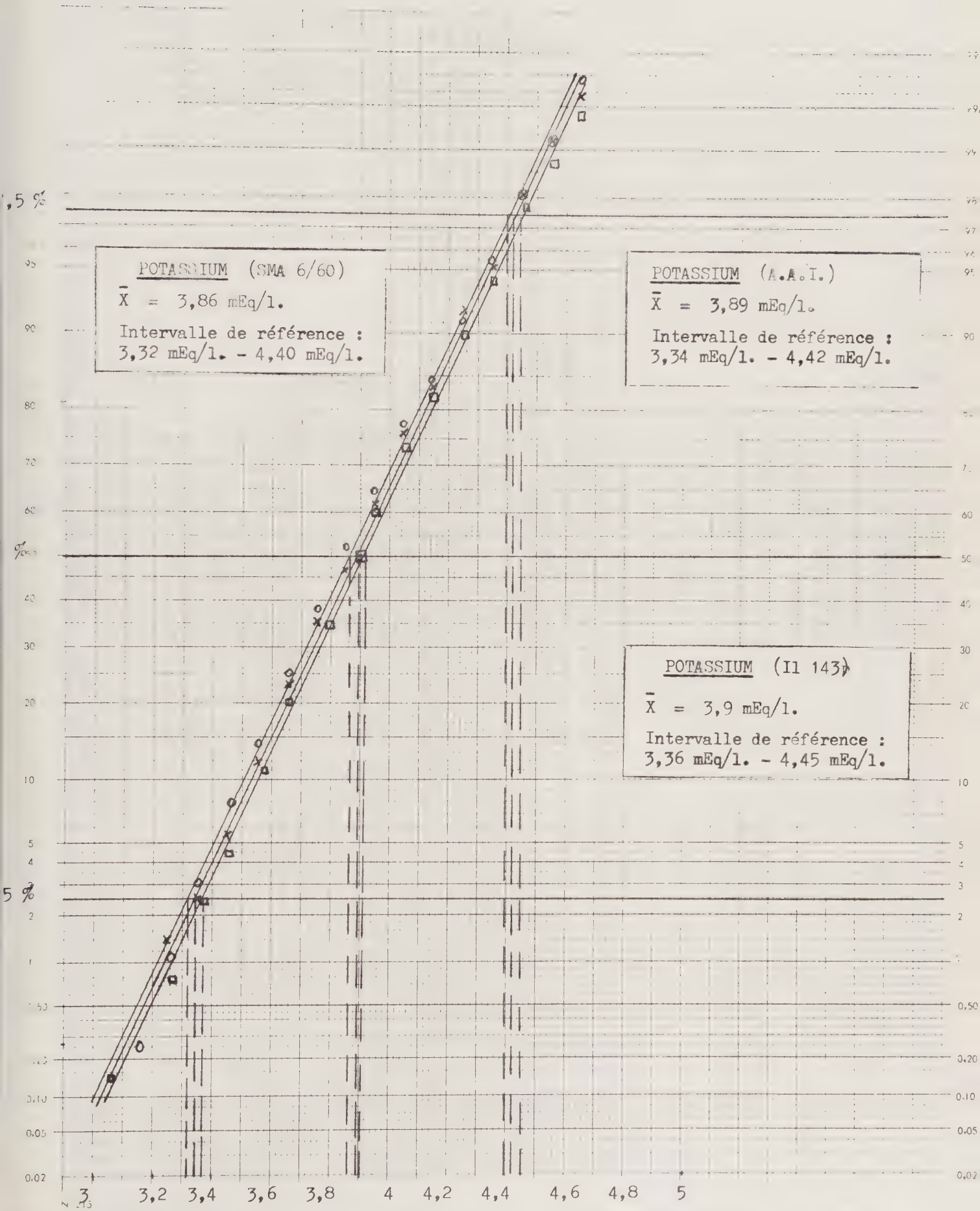


Diagramme de la droite de Henry ou droite-échantillon (anamorphe de la courbe de probabilité totale de la loi de Gauss).

Fig. 10

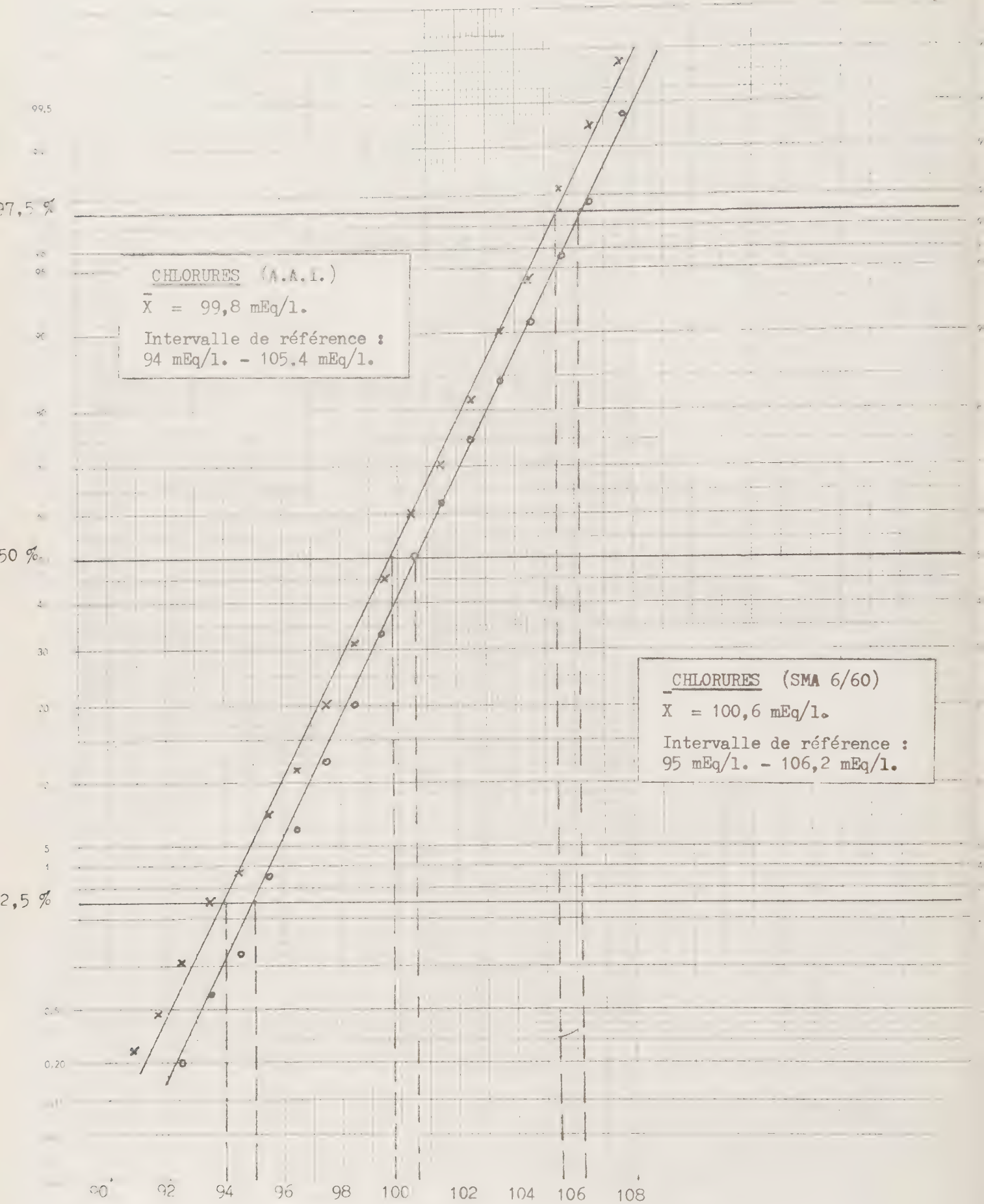


Diagramme de la droite de Henry ou droite-échantillon (anamorphe de la courbe de probabilité totale de la loi de Gauss.

Fig.

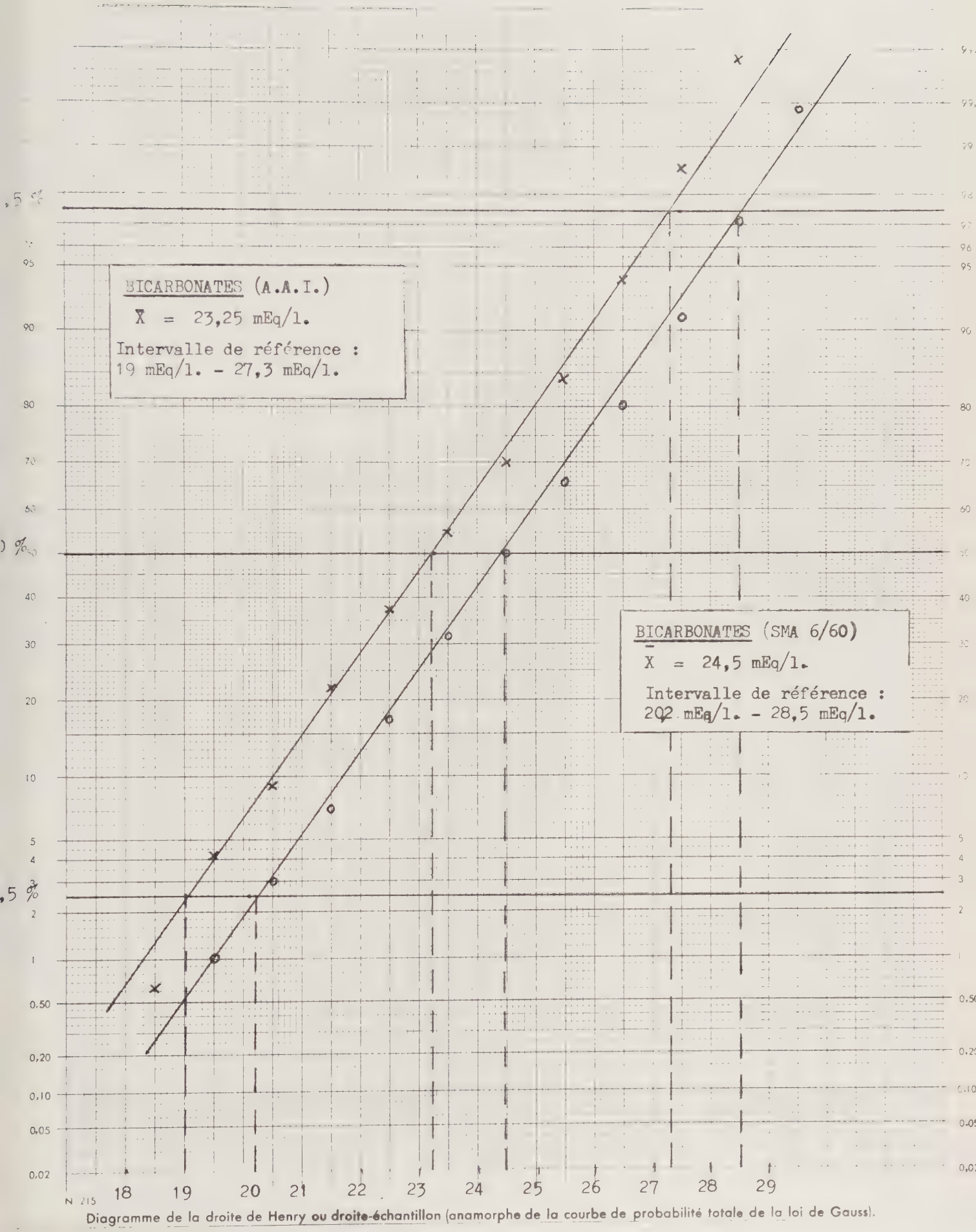


Diagramme de la droite de Henry ou droite-échantillon (anamorphe de la courbe de probabilité totale de la loi de Gauss).

Fig. 12

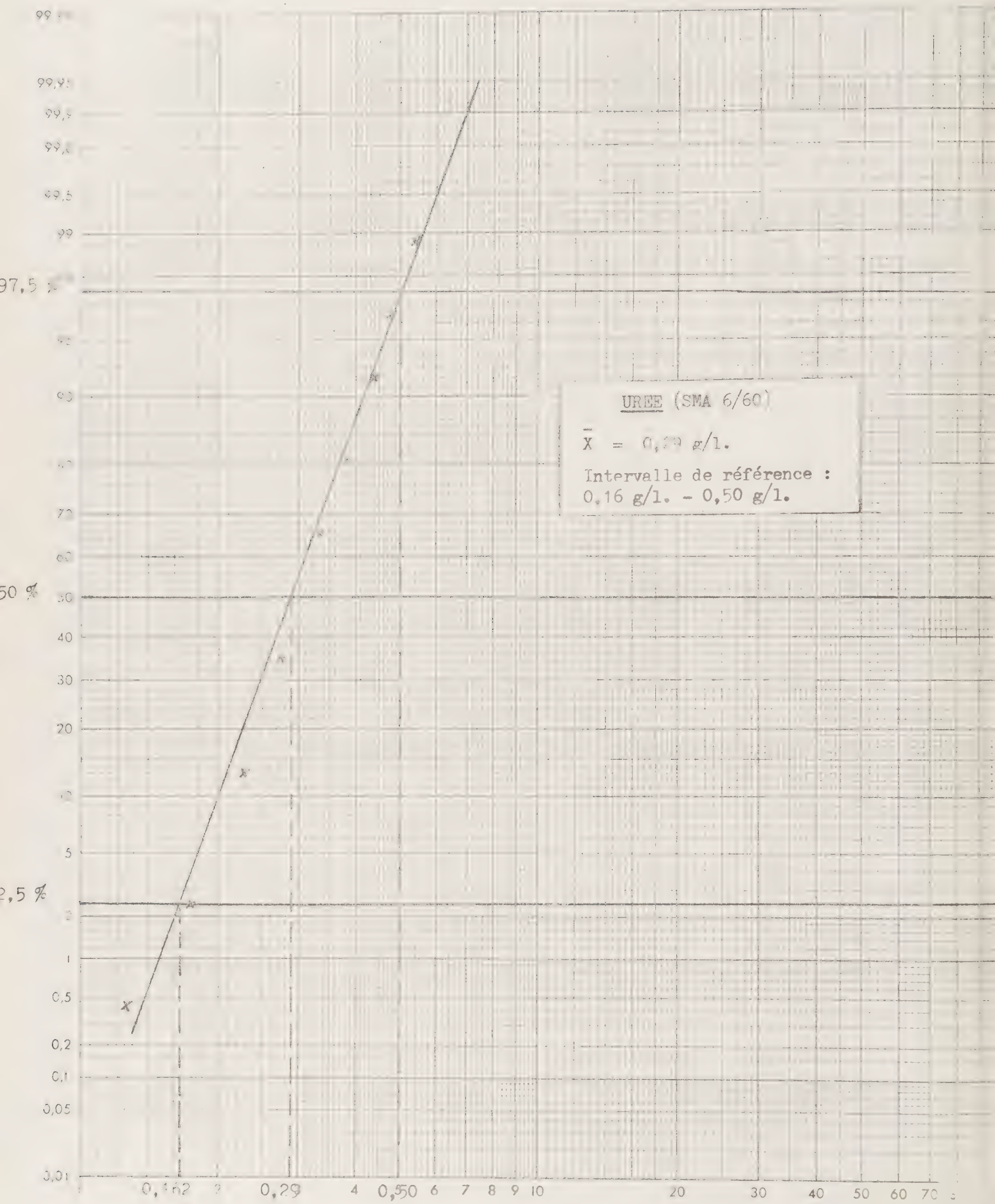

UREE (SMA 6/60)
X̄ = 0,29 g/l.
Intervalle de référence :
0,16 g/l. - 0,50 g/l.
97,5 %
50 %
2,5 %
99,9
99,5
99
90
70
60
40
30
20
10
5
1
0,5
0,2
0,1
0,05
0,01
0,16
0,29
0,50
2
4
6
7
8
9
10
20
30
40
50
60
70

Fig. 13

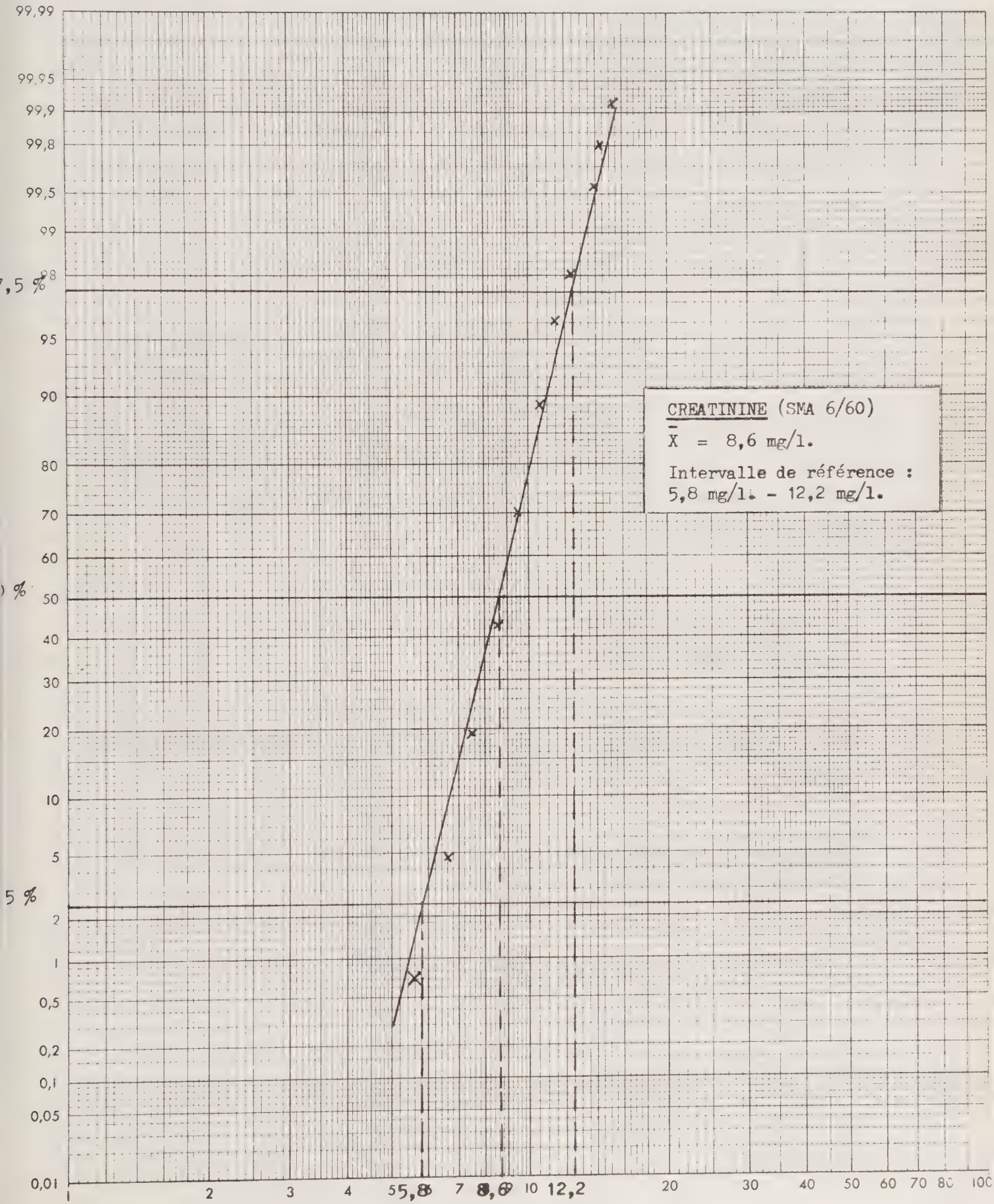

CREATININE (SMA 6/60)
X̄ = 8,6 mg/l.
Intervalle de référence :
5,8 mg/l. - 12,2 mg/l.
99,99
99,95
99,9
99,8
99,5
99
95
90
80
70
60
50
40
30
20
10
5
2
1
0,5
0,2
0,1
0,05
0,01
2
3
4
5,8
7
8,6
10
12,2
20
30
40
50
60
70
80
100

Fig. 14

chlorures et les bicarbonates, alors qu'il faut utiliser du papier de probabilité logarithmique (log-prob) pour obtenir le tracé d'une droite avec l'urée et la créatinine ce qui nous montre que ces deux paramètres ont une répartition log normale.

Nous déterminons par le calcul la moyenne m et l'écart standard S des éléments dont la répartition est normale gaussienne.

$$m = \frac{\Sigma x}{n} \qquad S = \sqrt{\frac{(x - m)^2}{n-1}}$$

La moyenne et l'écart type de l'urée et de la créatinine sont lues sur le papier de probabilité logarithmique après avoir tracé les droites de Henry correspondantes.

L'intervalle de référence donne les limites supérieures et inférieures à l'intérieur desquelles on trouvera 95 % de la population de référence.

Pour les éléments à distribution normale gaussienne il est centré par la moyenne avec de part et d'autre de cette moyenne deux déviations standard.

Pour les éléments à distribution log-normale, cet intervalle de référence nous est donné par le graphique et la droite de Henry.

Exemple de calcul de la moyenne m et de l'écart type S du sodium

La variance $S^2 = \frac{\Sigma (x - m)^2}{n - 1}$ s'exprime encore sous la forme $S^2 = \frac{\Sigma x^2 - (\frac{\Sigma x}{n})^2}{n - 1}$

si $\Sigma x = T_1$)
et $\Sigma x^2 = T_2$) → $\boxed{S^2 = \frac{T_2 - T_1^{\,2}/n}{n - 1}}$

C'est cette dernière expression que nous utiliserons pour les calculs de variance de chaque élément.

D'autre part, nous prendrons une origine provisoire x_0 qui substitue aux quantités x des quantités plus simples $x' = x - x_0$.

On calcule la moyenne m' et la variance S'^2 des x' la moyenne et la variance des x sont :

$$m = x_0 + m' \qquad S^2 = S'^2$$

Pour le calcul de la moyenne et de la variance du sodium (technique Il 143) nous utilisons l'origine provisoire

$$x' = x - 130$$

Nous présentons dans le tableau 2 les différentes données permettant d'effectuer les calculs et le tracé de la droite de Henry.

L'écart type S du sodium déterminé par le photomètre de flamme I l 143 = 2,41.

L'intervalle de référence du sodium (technique Il 143 est donc

$$m \pm 2\,S \quad \text{c'est-à-dire} \quad 138,20 \pm 4,82$$

soit : 133,38 - 143,02

Cas de l'urée et de la créatinine

La détermination de la moyenne de l'intervalle de référence et de l'écart type de l'urée et de la créatinine peuvent s'effectuer par le calcul $\log S = \sqrt{\frac{\Sigma (\log x)^2 - N (\log x)^2}{N - 1}}$ ou plus simplement graphiquement à l'aide de papier "log-prob".

CALCUL DE LA VARIANCE ET DE LA MOYENNE DU SODIUM (TECHNIQUE Il 143)

Limite des classes	Centre des classes	Effectifs n_i	Effectifs cumulés	Effectifs cumulés relatifs	$x'_i = x_i - 130$	$(x'_i)^2$	$n_i \times x'_i$	$n_i \times x'^2_i$
	131	7			1	1	7	7
131,5			7	0,52				
	132	6			2	4	12	24
132,5			13	0,97				
	133	20			3	9	60	180
133,5			33	2,46				
	134	51			4	16	204	816
134,5			84	6,268				
	135	91			5	25	455	2275
135,5			175	13,059				
	136	144			6	36	864	5184
136,5			319	23,80				
	137	170			7	49	1190	8330
137,5			489	36,00				
	138	270			8	64	2160	17 280
138,5			759	56,64				
	139	190			9	81	1710	15 390
139,5			949	70,82				
	140	147			10	100	1470	14 700
140,5			1096	81,79				
	141	121			11	121	1331	14 641
141,5			1217	90,82				
	142	74			12	144	888	10 656
142,5			1291	96,34				
	143	38			13	169	494	6422
143,5			1329	99,17				
	144	11			14	196	154	2 156
144,5			1340	100				
		n_i 1340					T_1=10999	$T_2$98061

Système provisoire :

$$m' = \frac{T_1}{n} = \frac{10\,999}{1340} = 8,20$$

$$s'^2 = \frac{T_2 - T_1^2 / n}{n - 1} = \frac{98\,061 - \left(\frac{10\,999}{1340}\right)^2}{1\,339}$$

$$s'^2 = 5,81$$

Système initial

$$m = x_o + m' = 130 + 8,20 = 138,20$$

$$s^2 = s'^2 = 5,81$$

$$s = 2,41$$

TABLEAU 2

Le tracé de deux droites parallèles à l'axe des abcisses où sont indiquées les différentes valeurs de classe, passant par les ordonnées 2, 5 et 97, 5 coupent le tracé d'anamorphose en deux points dont les abcisses vont nous donner les limites de l'intervalle de référence.

L'écart type sera le quart de la valeur de cet intervalle.

La moyenne est l'abcisse de l'intersection de la droite d'anamorphose avec la parallèle à l'axe des abcisses passant par le point ordonnée 50

II - RESULTATS OBTENUS

Les résultats des calculs et des déterminations graphiques figurent dans le tableau 3.
(la troisième décimale après la virgule a été conservée pour le potassium afin de rendre plus significatifs les calculs ultérieurs).

III - CRITIQUES DES RESULTATS OBTENUS

Si l'on compare les résultats des paramètres, déterminés par des technologies différentes, on constate que les valeurs de référence trouvées ne sont pas les mêmes selon la technique utilisée ce qui est surprenant puisque les dosages ont été effectués sur les mêmes prélèvements.

Nous allons tenter d'expliquer ces différences.

1- Sodium

La Natrémie moyenne du SMA 6/60 est située à

VALEURS DE REFERENCE OBSERVEES

		SMA 6/60	AUTO ANALYSEUR I	PHOTOMETRE DE FLAMME II 143
SODIUM	Moyenne m	139,29 mEq ‰	138,08 mEq ‰	138,20 mEq ‰
	Ecart type S	2,49 mEq ‰	2,25 mEq ‰	2,41 mEq ‰
	Intervalle de référence $m \pm 2S$	134,31mEq‰-144,27mEq‰	133,58mEq‰-142,58mEq‰	133,38mEq‰-143,02mEq
POTASSIUM	Moyenne m	3,85 mEq ‰	3,871 mEq ‰	3,881 mEq ‰
	Ecart type S	0,30 mEq ‰	0,35 mEq ‰	0,28 mEq ‰
	Intervalle de référence $m \pm 2S$	3,25 mEq‰ - 4,45 mEq‰	3,16 mEq ‰- 4,57 mEq‰	3,30 mEq‰-4,45 mEq
CHLORURES	Moyenne m	100,67 mEq ‰	99,79 mEq ‰	
	Ecart type S	2,78 mEq ‰	2,93 mEq ‰	
	Intervalle de référence $m \pm 2S$	95,11 mEq‰-106,23mEq‰	93,93mEq‰-105,65mEq‰	
BICARBONATES	Moyenne m	24,58 mEq ‰	23,25 mEq ‰	
	Ecart type S	2,17 mEq ‰	2,09 mEq ‰	
	Intervalle de référence $m \pm 2S$	20,24mEq ‰-28,92mEq‰	19,07mEq‰-27,43mEq‰	
UREE	Moyenne m	0,29 gr ‰		
	Ecart type S	0,08 gr ‰		
	Intervalle de référence	0,16 gr ‰-0,50 gr ‰		
CREATININE	Moyenne m	8,6 mgr ‰		
	Ecart type S	1,60 mgr ‰		
	Intervalle de référence	5,8 mgr‰-12,2mgr‰		

TABLEAU 3

1 mEq °/₀₀ au-dessus de celle de l'I 1 143.

Cette différence est-elle significative ? La réponse nous est fournie par un test de statistique (25) en appariant les résultats.

On compare la moyenne des n différences à 0 par l'écart réduit

$$\varepsilon = \frac{m}{S/\sqrt{n}}$$

où m et S désignent la moyenne et l'écart-type estimés sur l'échantillon des n différences.

$$m = 0,328 \quad \text{et} \quad S/\sqrt{n} = 0,056$$

$$\varepsilon = 5,85$$

comme $\varepsilon > 1,96$ les moyennes diffèrent significativement au risque 5 %.

L'étalonnage du photomètre I 1 143 s'effectue à l'aide d'une solution aqueuse standard de chlorure de sodium et de chlorure de potassium.

L'étalonnage du SMA 6/60 est réalisée à l'aide d'un sérum de référence. Ce sérum de référence a été dosé à l' I 1 143 équipé de son diluteur automatique I 1 144, et nous avons trouvé constamment une natrémie inférieure de 1 à 1,5 mEq à celle indiquée par le fabricant [x].

Ce sérum protéique de référence du SMA n'étant pas un standard au sens trict du terme (26) on pourrait douter de sa qualité.

Cette différence de 1 à 1,5 mEq est due, en fait, à la viscosité du sérum comparée à celle de la solution aqueuse standard utilisée pour l'étalonnage de l'I 1 143.

Nous pensons le prouver par l'expérience suivante :

---

x Précibio, 58, rue du Dessous des Berges Paris XIII

A partir d'une solution contenant 1 400 mEq °/₀₀ de chlorure de sodium, par dilution au $\frac{1}{10}$ nous préparons, d'une part une solution aqueuse à 140 mEq/l de Cl Na (solution A) et, d'autre part, une solution albumineuse à 140 mEq °/₀₀ de Cl Na (solution B).

L'albumine déminéralisée * ne contient pas d'ions sodium.

La préparation des solutions A et B a été effectuée 5 fois à plusieurs jours d'intervalle.

Pour chaque couple de préparations nous avons réalisé 10 dosages en faisant plonger alternativement le tuyau d'aspiration du diluteur Il 144 dans la solution A puis dans la solution B. Les résultats des 50 dosages ont été notés dans le tableau (4).

Solution A	Solution B	A - B
140	138	2
139	137,5	1,5
140	139	1
141	139	2
141	139,5	1,5
140	138	2
142	139,5	2,5
139	138	1
143	140	3
142	139	3

4 février 1972

Solution A	Solution B	A - B
141	139,5	1,5
140	138	2
140,5	139	1,5
141	139,5	1,5
140	138	2
141	139,5	1,5
142	141	1
143	142	1
142	141	1
141	141	0

22 février 1972

TABLEAU 4

* Etablissements L.H. Van Nierop - 18, rue Chartran - Neuilly-sur-Seine.

Solution A	Solution B	A - B
140	138, 5	1, 5
140	138, 5	1, 5
141	139	2
139	137	2
141	139, 5	1, 5
141	140	1
141	139, 5	1, 5
142	141, 5	0, 5
142	140	2
142	141	1

7 mars 1972

Solution A	Solution B	A - B
140	138, 5	1, 5
140	138, 5	1, 5
139, 5	139	0, 5
141	139, 5	1, 5
140	138	2
140, 5	139	1, 5
141	140	1
142	139	3
141	139, 5	1, 5
141	140	1

27 mars 1972

solution A	solution B	A - B
139	138	1
139	138	1
140	138, 5	1, 5
140	138	2
141	140	1
141	141	0
141	142	1
142	141	1
141, 5	141	0, 5
142	141	1

6 avril 1972

TABLEAU 4 (suite)

Pour s'assurer si la différence constatée à la simple lecture des tableaux est significative, nous effectuons, après appariement des résultats, le même test que précédemment (25).

$$\varepsilon = \frac{m}{S/\sqrt{n}}$$

$m = 1,51 \qquad \frac{S}{\sqrt{n}} = 0,64 \qquad \varepsilon = 2,36$

Les résultats diffèrent donc significativement au risque de 5 %.

Ainsi nous avons dosé deux solutions qui contiennent la même quantité de sodium, et la solution albumineuse dont la viscosité est supérieure à la solution aqueuse nous donne des résultats inférieurs de 0,5 à 2 mEq.

Nous avons d'autre part réalisé le dosage au SMA 6/60 et au photomètre I l 143 de plusieurs sérums de contrôle du commerce l'étalonnage de chaque appareil étant réalisé à l'aide d'une solution étalon aqueuse pour l' I l, et par une solution protéique pour le SMA.
Les taux de sodium trouvés ainsi que les valeurs théoriques sont inscrites dans le tableau (5).

	Versatol N [x] Lot 077 2030	Versatol A [x] 161 8031	Lyotrol N [xx] 01012	Calibrate 1 [x] 166 7021	Calibrate 2 [x] 166 8031	Calibrate [x] 190 9041
Valeurs théoriques	139	124	129	122	134	147
SMA 6/60	138	127	132	123	133,5	148
I l 143	136	126	130	121,5	131	146

TABLEAU 5

[x] Precibio, 58, rue du Dessous des Berges Paris 13°

[xx] B D Merieux 69, Marcy l'Etoile France.

On observe, une fois de plus, un décalage de 1 à 2 mEq entre les résultats des natrémies fournis par les deux appareils.

L'emploi d'une solution aqueuse pour étalonner l'I l 143, type de solution conseillée par le fabricant n'est donc pas satisfaisant.

Différence entre SMA et Autoanalyseur I

La moyenne de la natrémie obtenue avec l'autoanalyseur I électrolytes qui est également inférieure de plus de 1 mEq à celle donnée par le SMA 6/60 ne peut s'expliquer que par une différence d'étalonnage.

L'étalonnage est réalisé pour les autoanalyseurs de première génération à l'aide de solutions étalons aqueuses alors que les échantillons dosés sont des échantillons de sérum.

Il se pose donc un problème d'étalonnage des appareils par des solutions étalons contenant desprotéines. Nous envisagerons cette question ultérieurement.

2 - Potassium

La comparaison des valeurs de la kaliémie selon les trois techniques nous montre des moyennes et des écarts types très proches mais la moyenne est très inférieure au chiffre de 5 mEq donné par GAMBLE et aux autres résultats trouvés dans la littérature comme nous l'avons déjà indiqué.

La question se pose donc de savoir si les donneurs de sang peuvent être considéréscomme des sujets normaux tout au moins en ce qui concerne la kaliémie.

GARCIA, WEBB, SHARP et K.A. PIPER ont étudié les variations du taux des électrolytes avant et après le don de 200 à 400 ml de sang (27). Ils n'ont pas constaté de variation de la natrémie,

de la chlorémie, du taux des bicarbonates, mais ils ont noté une élévation du taux de la kaliémie de 0,1 à 0,3 mEq °/₀₀ sur le sang recueilli après le don du sang par rapport au sang prélevé avant le don. Cette augmentation de la kaliémie observée chez beaucoup de donneurs serait liée à la sortie du potassium des muscles des avant-bras, celle-ci résultant de la contraction rythmique des muscles de la main au cours du recueil.

Or, les prélèvements de sang, dans notre étude, ont tous été effectués après le don du sang, les donneurs n'étant piqués qu'une seule fois.

Ainsi, cette augmentation de la kaliémie constatée par plusieurs auteurs ne peut expliquer en rien au contraire, la kaliémie plutôt basse que nous avons constatée.

3 - Bicarbonates

La détermination du taux des bicarbonates à l'autoanalyseur I et au SMA s'effectue par deux techniques qui diffèrent par plusieurs facteurs : l'indicateur de pH, la phénolphtaléfne pour l'autoanalyseur I, le rouge de crésol pour le SMA, l'étalonnage qui est effectué par une solution étalon aqueuse pour l'autoanalyseur I et par un sérum de référence pour le SMA.

Le taux de bicarbonate représente en fait la somme du CO_2 provenant du dégazage du plasma et du CO_2 dissous. Le dosage a été effectué sur du plasma séparé à partir de sang veineux non recueilli à l'abri de l'air, le plasma n'ayant pas été resaturé au préalable avec un mélange gazeux de composition proche de l'air alvéolaire.

La détermination des valeurs de référence est donc ici très dépendante de la technologie, mais la détermination de ces valeurs

de référence présente néanmoins un intérêt dû à l'emploi très courant des techniques de ce type, les seules utilisées pratiquement au cours de la réalisation rapide et automatique des bilans électrolytique ; les résultats obtenus sont d'ailleurs satisfaisants en biologie clinique.

Nous avons cependant comparé les résultats des dosages de bicarbonates effectués sur des prélèvements de sang artériel simultanément sur le SMA 6/60 , après séparation du plasma, et sur l'appareil Radiometer * (détermination du pH et de la P CO_2 et calcul des bicarbonates selon l'équation d'Henderson-Hasselbach.
Dans le tableau (6) figurent les résultats des dosages.

Nous observons dans la majorité des cas une différence de 1 à 2 mEq en faveur de la méthode utilisant l'appareil pourla détermination des gaz du sang Radiometer.

4 - Chlorures

Les moyennes de la chlorémie obtenues par la technique du SMA 6/60 et de l'Autoanalyseur I sont différentes de 1 mEq environ. Là encore et commepour le sodium, il faut en chercher l'explication dans un étalonnage différent , aqueux pour l'Autoanalyseur I et protéique pour le SMA 6/60.

IV - VARIATION DES VALEURS DE REFERENCE EN FONCTION DE L'AGE ET DU SEXE.

Les calculs statistiques ont été effectués sur 654 donneurs et nous avons groupé nos résultats par classes d'âge et par sexe.
Les résultats obtenus figurent sur le tableau (7).

Nous constatons des valeurs d'urée et de créatinine plus élevées chez l'homme que chez la femme et une augmentation de l'urée et de la créatinine en fonction de l'âge, mais ceci est bien connu.

---

* RADIOMETER type E 5046 Jarre et Jacquin, 18, rue Pierre Curie Paris V°

pH *	P CO_2 *	CO_3H^- calculé * (A)	CO_3H^- (SMA) CO_2 total - CO_2 dissous (B)	A - B
7,42	39	24,5	23	+ 1,5
7,39	48	28	27	+ 1
7,49	30	22	21	+ 1
7,35	59	31,5	30	+ 1,5
7,32	41	20,5	16	+ 4,5
7,35	53	28	27	+ 1
7,37	33	18,5	19	- 0,5
7,41	30	18,5	19	- 0,5
7,30	40	19	17	+ 1
7,36	38	20,5	21	- 0,5
7,43	25	16	16	0
7,31	39	19	19	0
7,33	29	15	14	+ 1
7,34	35	18,5	18	+ 0,5
7,42	43	27	26,5	+ 0,5
7,36	43	23,5	23	+ 0,5
7,31	37	18	14	+ 4
7,36	34	18,5	17	+ 1,5
7,32	70	35	33	+ 2
7,33	50	25,5	25	+ 0,5
7,36	50	27	27	0
7,33	26	13,5	13	+ 0,5
7,36	41	22,5	23	- 0,5
7,37	38	21	21	0
7,32	56	28	29	- 1
7,31	74	36	34	+ 2
7,48	36	25,5	23,5	+ 2
7,35	45	24	24	0
7,33	32	16,5	13,5	+ 3
7,49	31	22,5	21	
7,39	43	25	23	+ 2
7,26	82	34,5	35	- 0,5
7,32	71	35,5	35	+ 0,5

TABLEAU 6

* RADIOMETER type E 5046 JARRE ET JACQUIN 18, rue Pierre Curie PARIS V)

COMPARAISON ENTRE BICARBONATES DOSES AU SMA 6/60 ET BICARBONATES CALCULES (suite

pH	P CO_2	CO_3H^- calculé (A)	$CO_3 H^-$ (SMA) CO_2 total - CO_2 dissous (B)	A - B
7,37	43	24	25	- 1
7,35	59	31,5	29,5	+ 2
7,38	57	32,5	31	+ 1,5
7,36	52	26,5	27	+ 1,5
7,33	61	31	29,5	+ 1,5
7,31	54	26,5	25,5	+ 1
7,30	51	24,5	23	+ 1,5
7,34	42	21,5	21	+ 0,5
7,40	37	22	21	+ 1
7,36	40	21,5	21	+ 0,5
7,36	72	39,5	38	+ 1,5
7,33	53	27	26	+ 1
7,39	30	17,5	16	+ 1,5
7,36	48	26	25	+ 1
7,40	42	25,5	24	+ 1,5
7,40	45	27	26	+ 1
7,37	41	23	22	+ 1
7,30	57	27,5	26	+ 1,5

TABLEAU 6

MOYENNES OBSERVEES EN FONCTION DE L'AGE ET DU SEXE

PARAMETRES	20 à 30 ♀	20 à 30 ♂	20 à 30 ♀ + ♂	30 à 40 ♀	30 à 40 ♂	30 à 40 ♀ + ♂	40 à 50 ♀ + ♂	40 à 50 ♂	40 à 50 ♀ + ♂	50 à 60 ♀	50 à 60 ♂	50 à 60 ♀ + ♂	♀	♂
SODIUM	138,45	139,30	138,87	138,20	130,52	138,86	138,53	139,90	139,21	140,55	139,2	139,87	139,21	138,
POTASSIUM	3,67	3,78	3,73	3,77	3,82	3,80	3,79	3,91	3,85	3,82	3,93	3,87	3,81	3,
CHLORURES	100,28	100,64	100,46	99,86	100,61	100,23	100,83	100,47	100,65	101,91	100,53	101,22	100,06	100,
BICARBONATES	23,90	25	24,45	23,81	25,01	24,41	,23,55	24,26	23,91	24,76	24,66	24,71	24,06	24,
UREE	0,25	0,30	0,28	0,29	0,31	0,30	0,29	0,31	0,30	0,30	0,33	0,315	0,29	0,
CREATININE	8,25	8,98	8,62	8,26	9,25	8,76	8,1	9,14	8,62	8,32	9,28	8,80	8,10	9,

TABLEAU 7

Par contre, en ce qui concerne les autres éléments : sodium, potassium, chlorures, bicarbonates, il ne semble pas qu'il existe des variations significatives.

Les valeurs de la moyenne et intervalles de référence que nous avons trouvés sont donc très contingents de la technologie, de l'étalonnage, de l'exactitude et de la précision des méthodes utilisées.

Nous déterminerons ensuite la précision de nos dosages, la variance analytique de chacun d'eux.

TROISIEME CHAPITRE

VARIABILITES ANALYTIQUES ET BIOLOGIQUES

QUALITE DES TECHNIQUES

I - DETERMINATION DE LA PRECISION (OU REPRODUCTIBILITE) DES DOSAGES.

Cette détermination entre dans le cadre du contrôle de qualité effectué au laboratoire et dont le principe est le suivant (28) (29) : nous disposons d'un grand nombre de flacons de sérum humain lyophilisé provenant d'un même lot,* dont la composition nous est inconnue. Après reconstitution soigneuse, un ou plusieurs flacons sont distribués chaque jour dans les différents départements du laboratoire. Ce sérum, comme le sérum des malades, est dosé au niveau des différents postes de travail automatiquesou manuels.

Le résultat trouvé par la technicienne est affiché sur un diagramme (carte de contrôle); les sérums sont traités d'une manière non préférentielle.

---

* Hyland n° R 009 A 1 lot.

Ainsi, le dosage du même sérum de contrôle effectué chaque jour fournit des résultats dont la dispersion autour de la moyenne reflète l'imprécision de la méthode dans ses conditions habituelles d'utilisation (variabilité analytique journalière).

Cette variabilité analytique est en relation avec la qualité de la technique ou répétabilité, avec le mode d'étalonnage utilisé, avec le réglage de l'appareil automatique, la qualité du technicien. Cette variabilité analytique est chiffrée périodiquement par le calcul de la moyenne et de l'écart type qui mesure la dispersion des valeurs rencontrées autour de la valeur moyenne

$$m = \frac{\Sigma x}{n} \qquad S = \sqrt{\frac{\Sigma (m-x)^2}{n-1}}$$

On calcule d'autre part le coefficient de variation qui permet de comparer la reproductibilité d'une méthode à différents niveaux de concentration

$$C\ V = \frac{S}{m} \times 100$$

Le sérum de contrôle de qualité journalier utilisé pendant toute lapériode de notre étude possédait, pour les différents paramètres, excepté pour les bicarbonates, des concentrations très proches des valeurs normales.

Le contrôle de précision est très important pour le clinicien, puisque de la valeur de l'écart type analytique vont dépendre les valeurs de référence observées utilisées pour l'appréciation des résultats des malades.

D'autre part, pour le biologiste, cette mesure journalière dela précision lui permet de porter un jugement sur la qualité et la maintenance de ses techniques ; elle lui permet de se situer chaque jour par rapport au jour précédent et d'intervenir si besoin est.

En effet, tout résultat du sérum de contrôle sortant des deux écarts-types commande une action immédiate (29).

La première consiste dans le passage d'un nouvel échantillon de contrôle pour voir s'il ne s'agit pas d'une erreur fortuite.

Si le résultat est confirmé, confrontation des valeurs obtenues avec d'autres types d'analyses afin d'éliminer une éventuelle erreur de remise en solution du lyophilisat (valeurs systématiquement trop hautes ou trop basses). Enfin, toutes ces erreurs fortuites ayant été écartées, décision du responsable de l'analyse : élimination des résultats de la même série, reprise de l'étalonnage de l'appareil, vérification des réactifs.

Le contrôle de précision est réalisé dans un certain nombre de laboratoires hospitaliers de la région parisienne. Les calculs sont effectués par les ordinateurs du Service du traitement de l'Information (S.E.T.I.) de l'Assistance publique à Paris, et les résultats sont édités pour chaque laboratoire, avec indication du mode de dosage utilisé (technique, appareillage, étalonnage).

Nous rapportons dans le tableau 8 les résultats de ce contrôle, pour notre laboratoire, concernant les paramètres de notre étude, de septembre 1971 à janvier 1972.

Contrôle de qualité Hôpital Saint-Louis - 1er septembre-30 janvier

Sérum Hyland lot n° R 009 A 1

Paramètres	Technologie S	Ecart-type S	Moyenne $\pm$ 2 S	Coefficient de variati
SODIUM	SMA 6/60	1,5	142 $\pm$ 3	1,06 %
	Autoanalyseur I	1,5	140 $\pm$ 3	1,07 %
POTASSIUM	SMA 6/60	0,081	4,14 $\pm$ 0,16	1,93 %
	Autoanalyseur I	0,1	4,2 $\pm$ 0,2	2,38 %
CHLORURES	SMA 6/60	1,14	105,8 $\pm$ 2,28	1,08 %
	Autoanalyseur I	1,5	105 $\pm$ 3	1,43 %
BICARBONATES	SMA 6/60	1,02	13,37 $\pm$ 2	7,63 %
	Autoanalyseur I	1	13,7 $\pm$ 2	7,30 %
UREE	SMA 6/60	0,02	0,33 $\pm$ 0,04	6,06 %
CREATININE	SMA 6/60	0,74	9,12 $\pm$ 1,48	8,11 %

TABLEAU 8

Le sérum Hyland lot n° R009 A_1 utilisé pour le contrôle de qualité est un sérum dont les taux des différents paramètres (excepté les bicarbonates) sont proches de la normale.

Un certain nombre d'hôpitaux ont effectué le contrôle de qualité avec ce lot ; la moyenne des résultats figure dans le tableau 9.

D'autres hôpitaux ont utilidé un sérum de contrôle à taux anormaux, sérum Dade lot n° XPT 23, tableau 9

Paramètres	Technologie	Sérum Hyland Ecart-type	Sérum Dade Ecart-type
SODIUM	SMA 6/60	1,68	1,43
	Autoanalyseur I	1,72	1,72
	I 1 143	1,37	1,21
POTASSIUM	SMA 6/60	0,09	0,12
	Autoanalyseur I	0,10	0,12
	I 1 143	0,07	0,09
ChlORURES	SMA 6/60	1,32	1,68
	Autoanalyseur I	1,41	1,57
BICARBONATES	SMA 6/60	1,24	
	Autoanalyseur I	1,11	
UREE	SMA 6/60	0,015	0,02
	Autoanalyseur I	0,02	0,02
CREATININE	Autoanalyseur I	0, 0	1,46
	Technique manuelle	1,14	1,28

Moyenne des écarts-types pour les différents hôpitaux participant au contrôle de qualité.

TABLEAU 9

La comparaison des tableaux 8 et 9 montre que les écarts types observés dans notre laboratoire se situent à un niveau légèrement inférieur à la moyenne des écarts types des différents hôpitaux. (30)

Les écarts types obtenus dans le cas du sérum anormal sont supérieurs à ceux observés avec le sérum normal excepté pour le sodium, les taux moyens des paramètres du sérum anormal étant plus élevés que ceux du sérum normal sauf dans le cas du sodium.

On vérifie à nouveau que l'écart type augmente généralement avec la concentration mais non linéairement. Le même fait a été constaté par BROUGHTON and WANNAN (31) comme l'indique le tableau 10.

Paramètres	Concentration	Ecart type S	CV
SODIUM	120 mEq °/₀₀	1	0, 83
	151 mEq °/₀₀	1, 1	0, 73
POTASSIUM	2, 5 mEq°/₀₀	0, 066	2, 64
	6, 6 mEq°/₀₀	0, 094	1, 42
CHLORURES	85 mEq °/₀₀	1, 06	1, 25
	115 mEq °/₀₀	1, 32	1, 15
BICARBONATES	14 mEq °/₀₀	0, 68	4, 86
	30 mEq °/₀₀	0, 81	2, 70

Variations de l'écart type en fonction de la valeur moyenne

TABLEAU 10

Il ressort de ces observations qu'il est nécessaire, pour la détermination des valeurs normales, de contrôler la précision des méthodes utilisées avec des sérums de contrôle dont les taux moyens sont proches de la normale.

Il est évident que la précision des techniques utilisées doit être aussi bonne que possible. La précision mesurée par le contrôle de qualité permet de constater une amélioration constante des performances des laboratoires, l'intervalle des valeurs de référence diminuant parallèlement.

Nous concevons évidemment que les valeurs de référence devront être ajustées en fonction de l'évolution des techniques.

On a relevé dans la littérature quelques résultats de contrôle de qualité effectués aux U.S.A., en Grande Bretagne et en Norvège à l'aide d'autoanalyseur Technicon et de SMA (tableau 11). Les écarts types et coefficients de variation sont plus élevés que ceux observés dans les hôpitaux de la région parisienne.

Il est nécessaire de communiquer aux cliniciens la précision des méthodes. Cette précision ne doit pas être la meilleure obtenue au cours d'une période de temps limitée, dans des conditions de travail exceptionnelles, mais la précision moyenne qu'il est possible de maintenir à une valeur constante dans des conditions de travail habituelles. En effet, pour que les résultats soientinterprétables sur le plan clinique, il est indispensable que la précision soit constante d'un mois sur l'autre.

II - EXACTITUDE DES DOSAGES

L'exactitude des moyennes trouvées dans notre population de donneurs de sang dépend en grande partie dela qualité de l'étalonnage.

TABLEAU 11

Contrôle de qualité effectué aux U.S.A., Grande Bretagne et Norvège

	Réf.	Moyennes ou Echelle de valeurs	Ecart type	C V %
SODIUM mEq °/₀₀	(32)	119 - 143	1,49	
	(33)	131	3,40	2,6
	(17)	142	2,27	1,6
	(34)	137	2,25	1,64
POTASSIUM mEq °/₀₀	(32)	3,9 - 7,2	0,13	
	(33)	4,49	0,17	4
	(17)	5,6	0,11	2,04
	(34)	5	0,13	2,60
CHLORURES mEq °/₀₀	(32)	94 - 104	1,4	
	(33)	105,5	3,27	3,1
	(17)	99	1,68	1,70
	(34)	100	1,70	1,70
BICARBONATES mEq °/₀₀	(32)	14 - 27,5	0,80	
	(17)	30	0,91	3,05
	(34)	23,3	0,90	3,86
UREE gr °/₀₀	(32)	0,12 - 0,37	0,10	
	(33)	0,26	0,014	5,5
	(17)	0,58	0,02	4,4
	(34)	0,30	0,01	5
CREATININE mg °/₀₀	(32)	10 - 25	1,1	
	(33)	29,1	2,76	9,5
	(34)	17	2,4	14,10
	(35)	18,1	1,11	6,1

Nous avons vu que l'étalonnage des autoanalyseurs de 1ère génération (Autoanalyseur I) est réalisé à l'aide de solutions aqueuses d'étalons primaires contenant les ions Na^+ K^+ Cl et $CO_3 H^-$. Plusieurs solutions étalons de concentrations différentes permettent d'établir une courbe standard à partir de laquelle seront calculés les différents dosages.

L'usage de telles solutions aqueuses n'est pas entièrement satisfaisant car les plasmas ont une viscosité bien supérieure aux solutions aqueuses qui leur servent d'étalons et la dialyse ne s'effectue pas forcément dans les deux cas avec le même rendement.

Sur les appareils SMA 6/60, de nombreux auteurs s'accordent pour dire qu'il est préférable d'étalonner les appareils avec des solutions qui se rapprochent le plus possible des plasmas à doser parce qu'il est indispensable que les différentes phases analytiques aient lieu sur des solutions de même nature.

Pour bien calibrer l'appareil on utilise des sérums dits "de référence", (différents des sérums de contrôle). Un seul point de gamme est nécessaire, fourni par le sérum de référence, la ligne de base étant réglée sur les réactifs.

L'appareil étant linéarisé, un seul point de gamme est suffisant mais le risque est que si la valeur annoncée par le fabricant du sérum de référence est fausse, tous les dosages ultérieurs seront entachés d'erreur ; il est donc indispensable que les valeurs indiquées par le fabricant soient exactes.

L'emploi de solutions aqueuses couramment utilisées avec l'autoanalyseur I est ici à rejeter complètement. On constate, en effet, qu'après étalonnage du SMA 6/60 avec un sérum de référence protéique, le passage d'une gamme d'étalons aqueux fournit des valeurs inférieures aux valeurs théoriques. Le tableau 12 montre un exemple des résultats obtenus par P.M.G. BROUGHTON and Coll. (17)

Ce sérum "de référence" peut-il cependant être considéré comme une solution étalon ? Considérons la définition donnée par RADIN (36)

" L'étalon primaire biochimique est une substance existant dans les liquides biologiques et qui peut être préparée à l'intérieur de certaines limites de pureté. Ces limites doivent être compatibles avec la mesure par pesée.

- sa pureté sera admise lorsque toutes les tentatives de fractionnement par les méthodes connues auront échoué.
- sa qualité est définie par de nombreuses spécifications physiochimiques, en particulier l'absorption molaire.

L'étalon primaire biochimique sert à préparer la solution étalon primaire".

Les sérums de référence utilisés pour l'étalonnage du SMA ne sont pas par définition des solutions étalons primaires biochimiques comme en témoigne le principe de leur fabrication.

A partir d'un pool de sérum humain on obtient d'abord une solution protéique purifiée stable et privée, en grande partie, des autres constituants du sérum par désionisation sur résines, dialyse, absorption sur gel de silice pour les lipides, inactivation des enzymes par la chaleur.

DOSAGE SUR SMA 6/60 DE SOLUTION ETALONS AQUEUSES

Paramètres	Valeurs théoriques	Valeurs observées
SODIUM	120	115,8
	130	128
	140	136,6
	150	145,1
POTASSIUM	6	5,77
	5	4,96
	4	4,02
	3	3,11
	2	2,08
CHLORURES	122	120,2
	114	113,4
	106	105,2
	98	97,5
	90	90,2
	82	81,9
BICARBONATES	10	11,3
	16	17,9
	22	23,9
	28	29,5
	34	35,4
UREE	0,45	0,44
	0,90	0,89
	1,35	1,33
	1,80	1,79
	2,25	2,22
	2,70	2,61

TABLEAU 12

Après avoir dosé les éléments résiduels de la base protéique ainsi obtenue, on ajoute les quantités pesées des constituants du sérum nécéssaire pour obtenir les taux désirés.

Une filtration stérilisante est ensuite effectuée. Les sérums sont répartis en flacons, puis lyophilisés.

On procède ensuite à la détermination des concentrations finales par dosage.

Le sérum a donc les concentrations de ses différents éléments déterminés finalement par dosage.

Ce sérum de référence pourrait être considéré comme une solution étalon primaire biochimique si la solution protéique obtenue par désionisation et dialyse à partir du pool de sérum avait une composition entièrement définie, en particulier si elle était privée de la totalité de ses éléments minéraux, en un mot si elle était ramenée au rang d'étalon biochimique primaire selon RADIN, ce qui n'est pas le cas.

L'étalonnage de notre S M A est réalisé à l'aide de Calibrate Automated Lock In [x], sérum lyophilisé qui est reconstitué chaque matin avant l'usage.

Il nous a semblé intéressant de tenter de préparer une solution étalon protéique à partir d'albumine déminéralisée, [*] à laquelle il suffit d'ajouter des quantités pesées de sels minéraux. On prépare ainsi une solution étalon primaire à condition que l'albumine déminéralisée soit un étalon primaire biochimique ce qui n'est pas défini actuellement. Cette solution pourrait être utilisée avantageusement si son comportement vis-à-vis de la dialyse était identique à celui d'un sérum. Des essais sont actuellement en cours. (tableau 13

---

[x] Précibio - 58, rue du Dessous des Berges Paris XIII°

[*] L. Ph. Van Nierop - 18, rue Chartran - 92, Neuilly-sur-Seine.

ESSAIS DE CONSERVATION D'UNE SOLUTION ALBUMINEUSE

	Na		K		Cl		CO_3H^-		Urée		Créatinine		Protéi
	Aq.	Alb.	Aq.	Alb.	Aq.	Alb.	Aq.	Alb.	Aq.	Alb.	Aq.	Alb.	
Chiffres Théoriques	140	140	5	5	95	95	25	25	1	1	30	30	65
Chiffres trouvés 25.8. 1972	136	140	4,8	4,9	95	93	24	27	1	1	30	31	65
26.8. 1972	137	140	4,8	4,9	95	93	25	26	1	1,02	30	31	65
28.8. 1972	139	141	4,8	5	94	93	25	26	1,02	1,06	30	32	65
29.8 1972	137	141	4,9	5	96	96	25	28	1,04	1,02	31	32	65
30.8. 1972	136	141	5	5,1	95	96	26	26	1,02	1,01	31	33	66
31.8. 1972	139	141	5	5,2	96	97	26	26,5	1,02	1,01	31	33	66
1.9. 1972	138	141	5	5,1	96	96	25	26	1,01	1,01	30	32	66
2.9. 1972	139	141	5	5,1	95	96	26	25	1,02	1,02	31	30	66

TABLEAU 13

III - VARIABILITE BIOLOGIQUE

Lors de la détermination des valeurs de référence, la dispersion des résultats est la résultante des fluctuations des concentrations réelles ou biologiques chez lessujets de référence et des fluctuation propres à l'analyse.

La variance concernant les résultats ou variance observée est, quelles que soient les distributions :

$$S^2_{\text{observée}} = S^2_{\text{biologique}} + S^2_{\text{analytique}}$$

La variance observée et la variance analytique nous ont été données par l'expérimentation, la variance biologique ou physiologique ou variance vraie nous sera fournie par le calcul

$$S^2_{\text{bio.}} = S^2_{\text{obs.}} - S^2_{\text{ana.}}$$

La variance biologique ne dépend pas de la précision de la méthode mais uniquement de l'échantillonnage de la population étudiée. Sa valeur sera d'autant plus grande que l'échantillonnage sera plus diversifié (âge, sexe, mode de vie) ceci est particulièrement important pour les éléments dont la valeur varie avec l'âge et le sexe, l'urée par exemple.

La variance biologique que nous déterminons ici est donc grande, notre population de référence groupant des sujets des deux sexes et dont les âges s'étalent de 20 à 60 ans. (tableau 14)

Cette variance biologique peut être considérée comme une constante caractéristique d'un certain échantillon de sujets.

Cette constante pourrait être utilisée en pratique car il suffirait de lui ajouter la variance analytique propre au laboratoire pour en déduire la variance "observée", c'est-à-dire les valeurs de référence du laboratoire.

VALEURS DE REFERENCE OBSERVEES ET BIOLOGIQUES - PRECISION ANALYTIQUE

	Techniques	$\bar{X}$	S_{obs}	Intervalles de référence	CV_{obs}	S_{ana}	CV_{ana}	S_{bio}	CV_{bio}	$\frac{S_{obs}-S_{bio}}{S_{bio}} \times 100$
SODIUM	SMA 6/60	139,29	2,49	134,31-144,27	1,79	1,5	1,06	1,99	1,43	25,13 %
	Auto analyseur I	138,08	2,25	133,58-142,58	1,63	1,5	1,07	1,70	1,23	32,35 %
	Il 143	138,20	2,41	133,38-143,02	1,74	1,37	0,94	1,99	1,44	21,11 %
POTASSIUM	SMA 6/60	3,856	0,30	3,256-4,456	7,78	0,08	1,99	0,29	7,53	3,45 %
	Auto analyseur I	3,871	0,35	3,165-4,577	9,04	0,10	2,38	0,33	8,52	5,06 %
	Il 143	3,880	0,29	3,303-4,459	7,47	0,07	1,68	0,28	7	3,57 %
CHLORURES	SMA 6/60	100,67	2,78	95,11-106,23	2,76	1,14	1,08	2,54	2,52	9,45 %
	Auto analyseur I	99,79	2,93	93,93-105,65	2,94	1,5	1,43	2,51	2,52	16,73 %
BICARBONATES	SMA 6/60	24,58	2,17	20,24-28,92	8,83	1,02	4,08	1,91	7,77	13,61 %
	Autoanalyseur I	23,25	2,09	19,27-27,43	8,99	1	4	1,83	7,87	14,21 %
UREE	SMA 6/60	0,29	0,08	0,16-0,50	28,96	0,02	6,06	0,08	27,93	3,7 %
CREATININE	SMA 6/60	8,6	1,60	5,8-12,2	18,2	0,74	8,11	1,42	16,21	11,25 %

Ecart type observé S_{obs} - analytique S_{ana} - biologique S_{bio}

Les valeurs pour sodium, potassium, chlorures, bicarbonates sont exprimées en mEq %

pour l'urée en g %

pour la créatinine en mg %

TABLEAU 14

IV - INFLUENCE DE LA PRECISION SUR L'INTERVALLE DE S VALEURS DE REFERENCE

La variance observée résulte de la somme de la variance biologique et de la variance analytique.

$$S^2_{obs} = S^2_{bio} + S^2_{ana}.$$

De même si l'on utilise les coefficients de variation

$$CV^2_{obs} = CV^2_{bio} + CV^2_{ana}.$$

Pour un certain échantillonnage de population la variance biologique d'un de nos éléments du bilan ionique est une constante

$$S^2_{bio} = cte \qquad \text{et } CV^2_{bio} = cte$$

Supposons que pour un paramètre défini la précision de la méthode diminue :

$$S^2_{ana} \text{ augmente} \quad \text{ou } CV^2_{ana} \text{ augmente}$$

Il s'ensuit une augmentation de S^2_{obs} ou CV^2_{obs}, un élargissement del'intervalle des valeurs de référence observées.

Les limites des valeurs de référence observées s'éloignent des limites des valeurs de référence vraies ou biologiques.

Ou encore $\dfrac{CV_{obs} - CV_{bio}}{CV_{bio}}$ augmente

A.M. GOWENLOCK (30) et P.M.G. BROUTHTON ont élaboré un diagramme (fig. 4) ayant pour axes de coordonnée : en abcisse le CV analytique, en ordonnée le logarithme de l'erreur réalisée sur la détermination de l'échelle de référence c'est-à-dire le logarithme de $\dfrac{CV_{obs} - CV_{bio}}{CV_{bio}}$

Pour différentes valeurs du coefficient de variation biologique ces auteurs établissent la courbe des erreurs de l'intervalle des valeurs de référence observées en fonction du coefficient de variation analytique.

Ceci montre que l'écart sur la détermination de l'intervalle de référence observé, c'est-à-dire

$$\frac{CV_{obs} - CV_{bio}}{CV_{bio}}$$

augmente très rapidement pour une même précision, quand la variabilité biologique diminue. Ainsi les éléments étroitement régulés dont le coefficient de variation biologique est faible, comme le sodium dans le plasma, auront des intervalles de référence observés déterminés avec une erreur importante.

Pour ce type d'élément à variance biologique étroite quand le CV augmente l'erreur sur l'échelle de référence observée augmente également et très rapidement.

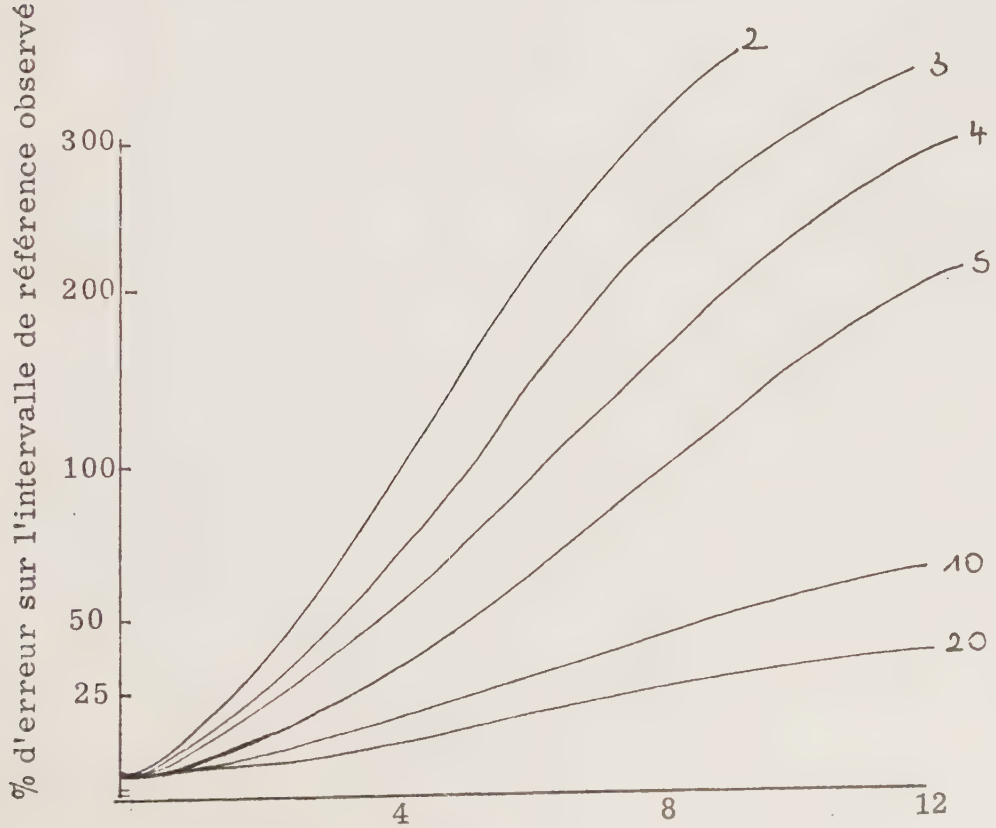


Fig. 15 CV analytique

Pour chaque élément dosé de notre bilan (ionique) et pour chaque méthode, nous avons déterminé l'erreur faite sur l'échelle de référence observée, c'est-à-dire

$$\frac{CV_{obs} - CV_{bio}}{CV_{bio}} \times 100 = \frac{S_{obs} - S_{bio}}{S_{bio}} \times 100$$

tableau 14.

Nous pouvons constater que ce rapport est important pour le sodium tout particulièrement, le chlore et la créatinine à un degré moindre.

Ces éléments ont des valeurs de référence observées éloignées des valeurs de référence biologiques.

Dans quelle mesure l'augmentation de la précision entraîne une réduction de l'échelle de référence observée ?

EXEMPLES

Prenons les exemples comparés du sodium et du potassium.

a) Potassium

Les écarts type observés analytiques et biologiques sont respectivement de

$$S_{obs} = 0,30$$

$$S_{ana} = 0,08$$

$$S_{bio} = 0,289$$

L'intervalle des valeurs normales biologiques est de

$$0,289 \times 4 = 1,156$$

et l'intervalle des valeurs de référence observées est de

$$0,3 \times 4 = 1,2$$

Ainsi l'imprécision du dosage de potassium élargit l'échelle biologique de 1,156 à 1,2.

Cette imprécision entraîne une majoration de l'écart type et du coefficient de variation de 3,45 % par rapport à l'écart type biologique ou au CV biologique (tableau 14).

Supposons que nous améliorions laqualité analytique de notre technique et que l'écart type analytique soit réduit de moitié 0,04 au lieu de 0,08. La variance biologique n'ayant pas évolué, calculons la nouvelle variance observée et le nouvel écart type observé.

$$S^2_{obs} = (0,04)^2 + (0,289)^2 = 0,0016 + 0,0836 = 0,0852$$

$$S_{obs} = \sqrt{0,0852} = 0,292$$

L'étendue des nouvelles normales observées est de $0,292 \times 4 = 1,168$

L'étendue des nouvelles normales observées représente

$\frac{1,168}{1,2} \times 100 = 97$ % de l'étendue des premières normales observées, d'où pour une réduction de moitié de l'écart type analytique une faible réduction de l'intervalle de référence observée.

Dans ce cas précis l'amélioration de la précision de la technique n'entraîne pas de réduction notable de l'intervalle de référence observée. On aurait pu s'y attendre en comparant les écarts typeobservés ; en effet, l'écart type biologique du potassium est très proche de l'écart type observé. La variance observée est due, en majeure partie, à la variance biologique, la variance analytique étant en effet peu importante.

b) Sodium

Les écarts type observés, analytiques et biologiques sont respectivement de 2,49, 1,5 et 1,99.

L'étendue des valeurs de référence biologiques est de $1,99 \times 4 = 7,96$

et l'étendue des normales observées est de

$2,49 \times 4 = 9,96$

L'imprécision du dosage du sodium élargit l'intervalle de référence biologique de 7,96 à 9,96.

Cette imprécision entraîne une majoration de l'écart type et du coefficient de variation de 25,19 % par rapport à l'écart type biologique ou CV biologique (voir tableau 14).

Supposons que nous améliorions la qualité analytique de notre technique et que l'écart type analytique soit réduit de moitié, 0,75 au lieu de 1,50. La variance biologique n'ayant pas variée, calculons la nouvelle variance observée et le nouveau écart type observé.

$$S^2_{obs} = (0,75)^2 + (1,99)^2 = 4,51$$

$$S_{obs} = \sqrt{4,51} = 2,12$$

L'étendue des nouvelles valeurs de référence observées est de $2,12 \times 4 = 8,48$ et représente $\frac{8,48}{9,96} \times 100 = 85\ \%$ de l'étendue des valeurs de référence observée avec un écart type analytique de 1,5, d'où, pour une réduction de moitié de l'écart type analytique une réduction nette de l'intervalle de référence observée.

Ainsi l'amélioration de la technique entraîne, au cours du dosage du sodium, une réduction marquante de l'échelle de référence observée qui se rapproche alors de l'échelle de référence biologique.

V - DIFFERENCE SIGNIFICATIVE ENTRE DEUX DOSAGES

Pour chaque paramètre et chaque technique nous connaissons la variance biologique et la variance analytique. Nous pouvons calculer quelle devra être la différence entre deux dosages pratiqués chez le même sujet pour que cette différence soit significative au risque de 5 %. (tableau 15)

Nous appliquons le test statistique t. (25)

$$t = \frac{\Delta}{S^2_{bio} + 2S^2_{ana}}$$

au risque 5 % $t = 1,96$

Δ est la différence entre deux dosages, valeur que nous calculons, S^2_{bio} ou variance biologique à utiliser dans la formule de t devrait être la variance intra individuelle et non la variance inter individuelle que nous avons calculée au cours de notre étude.

Cette variance biologique chez un même sujet est logiquement plus faible que la variance biologique entre les différents sujets si bien que Δ trouvé sera un peu plus grand que le Δ réel.

SODIUM			POTASSIUM			CHLORURE		BICARBONATES		UREE	CREATI...
MA 6/60	A A I	I 1	CMA 6/60	A A I	I 1	CMA 6/60	A A I	CMA 6/60	A A I	CMA 6/60	CMA 6/60
5,68	5,31	5,4	0,307	0,703	0,5	5,88	5,42	4,60	4,52	0,16	3,44

TABLEAU 15

VI - APPRECIATION DE LA QUALITE DES TECHNIQUES ANALYTIQUES

L'appréciation de la qualité des techniques s'effectue ainsi à trois niveaux :

1° - la précision analytique mesurée par le coefficient de variation analytique

2° - la précision comparée à la variance biologique montre que les éléments dont le dosage est le plus précis, le sodium, par exemple, ne sont pourtant pas assez précis étant donné la faible amplitude des variations biologiques.

3° - la précision souhaitée par les cliniciens qui utilisent les résultats biologiques. Cette précision est fonction de sa destinée médicale. Cette détermination est empirique.

TONKS (36) qui semble s'être intéressé le premier à cette question a tenté d'évaluer les limites d'erreur en rapport avec la signification clinique de l'analyse.

Les limites admissibles de l'erreur, selon TONKS, (Allowable limits of errors A.L.E.) sont représentées par le quotient du 1/4 des limites de référence par la moyenne x 100

$$A.L.E. \leqslant \pm \frac{1/4 \text{ des limites normales}}{\text{moyenne des limites normales}} \times 100$$

limites normales = limites de référence = $4\ S_{obs}$

d'où $A.L.E. \leqslant \frac{S_{obs}}{m} \times 100$ -- $A.L.E. \leqslant CV_{obs}$

Les résultats du contrôle de précision qui tombent à l'intérieur des $\pm 2\ S_{ana}$ sont considérés comme acceptables.

Ces $\frac{2\,S_{ana}}{m} \times 100$ ou $2\,CV_{ana}$ doivent, d'après la formule de TONKS être inférieurs à $1\,CV_{obs}$

$$2\,CV_{ana} < 1\,CV_{obs}$$

Si nous comparons nos $2\,CV_{ana}$ au CV_{obs} pour chaque paramètre et chaque méthode (tableau 15) nous constatons que les exigences de TONKS sont satisfaites pour le potassium, les chlorures, l'urée et la créatinine ainsi que les bicarbonates, mais ne le sont pas pour le dosage du sodium.

	Technologie	Erreurs observées	Limite d'erreur selon Tonks
SODIUM	SMA 6/60	2,12 %	1,79 %
	Autoanalyseur I	2,14 %	1,63 %
	I 1 143	1,88 %	1,74 %
POTASSIUM	SMA 6/60	3,86 %	7,78 %
	Autoanalyseur I	4,76 %	9,04 %
	I 1 143	3,36 %	7,47 %
BICARBONATES	SMA 6/60	8,16 %	8,83 %
	Autoanalyseur I	8 %	8,99 %
CHLORURES	SMA 6/60	2,16 %	2,76 %
	Autoanalyseur I	2,86 %	2,94 %
UREE	SMA 6/60	12,12 %	37,94 %
CREATININE	SMA 6/60	16,22 %	17,02 %

TABLEAU 15

TONKS utilise sa formule comme base de départ pour l'examen critique des résultats d'une vaste enquête de contrôle de qualité effectuée parmi des laboratoires de biochimie au Canada.

Pour certains éléments dont la marge de variation physiologique est étroite, comme le sodium et les chlorures, TONKS établit des limites plus larges. (tableau 16)

Paramètres	limites normales	limites d'erreurs calculées selon Tonks	Ajustement recommandé par Tonks
SODIUM	135 - 148	± 2,5 %	± 4 %
POTASSIUM	3,5 - 5	± 8,8 %	néant
CHLORURES	98 - 108	± 2,4 %	± 4 %
BICARBONATES	21 - 30	± 8,8 %	néant
UREE	10 - 20 mg/100	± 17 %	± 12 %
CREATININE	0,8 - 1,5 mg/100	± 25 %	± 10 %

Tableau 16

Pour d'autres comme l'urée et la créatinine dont les variations physiologiques sont importantes, il établit au contraire des limites plus étroites.

A.H. GOWENLOCK et P.M.G. BROUGHTON (37), utilisant leurs chiffres expérimentaux et ceux d'autres auteurs (7) (38), ont défini, pour quelques constituants du sang, la précision accomplie "Achieved precision" comme la meilleure déviation standard obtenue au cours du contrôle de qualité quotidien. (tableau 17

Constituants	"Achieved precision"	Coefficent de variation
SODIUM		(0,7 - 1 %)
POTASSIUM	0,075	1,9 %
CHLOREMIE	1 - 1,5	1 - 1,5 %
UREE 40 mg/100 ml	1,5	3,7 %
70	2,5	3,6 %
165	3,3	2,2 %

Tableau 17

"Achieved precision" selon A.H. GOWENLOCK et P.M.G. BROUGHT

BARNETT (39)) a rapporté une étude représentant la synthèse des opinions de biologistes et de cliniciens (participant à uneenquête du Collège of American Pathologists) vis-à-vis de la précision nécessaire pour le dosage d'un certain nombre de substances.

Nous reproduisons dans le tableau 18 les résultats par paramètres qui nous intéressent.

Paramètres	1 Niveaux de décision	2 S au même niveau	3 CV calculé	4 CV des laboratoires	5 CV Hôpital St-Louis
SODIUM	130 mEq °/₀₀	2	1,54	1,8	1,16
SODIUM	150 mEq°/₀₀	2	1,33	2	1
POTASSIUM	3 mEq°/₀₀	0,25	8,33	3,7	2,66
POTASSIUM	6 mEq°/₀₀	0,25	4,17	3,3	1,33
CHLORURES	90 mEq°/₀₀	2	2,22	2,1	1,26
CHLORURES	110 mEq°/₀₀	2	1,82	2,	1,03
BICARBONATES	20 mEq°/₀₀	1	5	-	-
BICARBONATES	30 mEq°/₀₀	1	3,33	-	-
N. UREIQUE	27 mg/100 ml	2	7,41	8,3	4

TABLEAU 18

Plusieurs niveaux de décision médicale sont donnés au-delà ou en deça desquels la valeur est jugée anormale et nécessite une décision(colonne 1). La colonne 2 indique la déviation standard appropriée au niveau de décisions correspondant et représente ce qui pourrait être cliniquement requis pour un bon usage de routine (95 % des valeurs analytiques se placent à l'intérieur des limites $\pm$ 2 S).

A.H. GOWENLOCK et P.M.G. BROUGHTON (37), utilisant leurs chiffres expérimentaux et ceux d'autres auteurs (7) (38), ont défini, pour quelques constituants du sang, la précision accomplie "Achieved precision" comme la meilleure déviation standard obtenue au cours du contrôle de qualité quotidien. (tableau 17)

Constituants	"Achieved precision"	Coefficent de variation
SODIUM		(0,7 - 1 %)
POTASSIUM	0,075	1,9 %
CHLOREMIE	1 - 1,5	1 - 1,5 %
UREE 40 mg/100 ml	1,5	3,7 %
70	2,5	3,6 %
165	3,3	2,2 %

Tableau 17

"Achieved precision" selon A.H. GOWENLOCK et P.M.G. BROUGHT

BARNETT (39)) a rapporté une étude représentant la synthèse des opinions de biologistes et de cliniciens (participant à uneenquête du Collège of American Pathologists) vis-à-vis de la précision nécessaire pour le dosage d'un certain nombre de substances.

Nous reproduisons dans le tableau 18 les résultats par paramètres qui nous intéressent.

Paramètres	1 Niveaux de décision	2 S au même niveau	3 CV calculé	4 CV des laboratoires	5 CV Hôpital St-Louis
SODIUM	130 mEq °/₀₀	2	1,54	1,8	1,16
SODIUM	150 mEq°/₀₀	2	1,33	2	1
POTASSIUM	3 mEq°/₀₀	0,25	8,33	3,7	2,66
POTASSIUM	6 mEq°/₀₀	0,25	4,17	3,3	1,33
CHLORURES	90 mEq°/₀₀	2	2,22	2,1	1,26
CHLORURES	110 mEq°/₀₀	2	1,82	2,	1,03
BICARBONATES	20 mEq°/₀₀	1	5	-	-
BICARBONATES	30 mEq°/₀₀	1	3,33	-	-
N. UREIQUE	27 mg/100 ml	2	7,41	8,3	4

TABLEAU 18

Plusieurs niveaux de décision médicale sont donnés au-delà ou en deça desquels la valeur est jugée anormale et nécessite une décision(colonne 1). La colonne 2 indique la déviation standard appropriée au niveau de décisions correspondant et représente ce qui pourrait être cliniquement requis pour un bon usage de routine (95 % des valeurs analytiques se placent à l'intérieur des limites $\pm$ 2 S).

La colonne 3 donne les coefficients de variation analytiques calculés en fonction du niveau de décision.

La colonne 4 montre les coefficients de variation pour la méthode la plus précise.

Nous faisons figurer dansla colonne 5 nos coefficients de variation ; il faut noter qu'en fait nous utilisons les écarts types trouvés pour des valeurs situées dans la zone de valeurs de référence.

C O N C L U S I O N

Les valeurs de référence qui résultent de notre étude sont différentes de celles indiquées par GAMBLE il y a plus de 15 ans. Avec le SMA 6/60, nous obtenons les chiffres suivants (Moyenne et Intervalle de référence observés : $x \pm 2 S$)

- Sodium	139,3	mEq/l	(134,3 à 144,3)
- Potassium	3,85	mEq/l	(3,25 à 4,45)
- Chlorures	100,7	mEq/l	(95,1 à 106,2)
- Bicarbonates	24,6	mEq/l	(20,20 à 28,90)
- Urée	0,29	g/l	(0,16 à 0,50)
- Créatinine	8,80	mg/l	(5,8 à 12,2)

Nous avons montré que ces chiffres sont légèrement différents si l'on s'adresse à d'autres techniques automatiques ou manuelles.

La dispersion des résultats observés est la résultante de la variabilité analytique et de la variabilité biologique de notre population de référence. Ayant mesuré la variabilité globale(ou observée) et la variabilité analytique, nous avons pu calculer la variabilité biologique "interindividuelle" qui peut ^etre considérée comme une véritable constante de notre population de référence.

Nous avons comparé cette valeur à la variabilité analytique montrant ainsi que certains dosages (tels que celui du sodium par photométrie de flamme) bien qu'assez précis du point de vue ana-

lytique, n'étaient pas satisfaisants compte tenu d'une très faible variabilité biologique des éléments envisagés.

Ces différentes déterminations nous ont permis de calculer quel devait être l'écart entre deux dosages pratiqués chez le même individu pour que cet écart soit significatif au risque de 5 %.

Notons que les chiffres trouvés sont légèrement trop élevés, car nous aurions dû tenir compte de la variabilité biologique chez le même sujet (ou variabilité intra individuelle) toujours plus faible que la variabilité inter individuelle.

Les valeurs "normales" publiées sont très variables d'un auteur à l'autre en fonction de l'évolution des techniques et des population de référence. Chaque laboratoire doit donc publier ses propres valeurs de référence (ainsi que la précision analytique de ses techniques de dosage) ou, tout au moins, utiliser des valeurs de référence établies avec des méthodes identiques à celles qu'il utilise.

Notre travail a été effectué sur une population importante de donneurs de sang des deux sexes. Mais nous avons également étudié les variations des valeurs de référence en fonction de l'âge et du sexe. Nous avons pu constater des différences significatives pour l'urée et la créatinine ; par contre, les moyennes de référence du sodium, du potassium, des chlorures et des bicarbonates sont pratiquement identiques chez les hommes et les femmes de 20 à 60 ans.

Dans cette étude, nous n'avons pas envisagé l'influence d'autres paramètres qui pourraient éventuellement intervenir. Citons, par exemple, (liste non exhaustive) :

- l'heure de la fin du diner la veille au soir,
- le régime alimentaire les jours précédant l'examen,
- la prise de liquide le matin avant l'examen,

- l'usage du tabac,
- la prise de médicaments la veille (notamment : diurétiques, stéroïdes, anticoagulants ...)
- l'heure de la dernière émission d'urines.

Enfin, il faudra également considérer d'autres populations : sujets alités, enfants et nouveaux-nés, personnes âgées de plus de soixante ans ...

C'est dans cette direction que nous comptons poursuivre ce travail qui devra également s'étendre vers d'autres paramètres du bilan électrolytique tels que calcium, magnésium et protides totaux.

BIBLIOGRAPHIE

1 - J.L. GAMBLE - Chemical antomy, physiology and pathology of extracellular fluid. Harvard University Press, Cambridge, Mass, 1960, 6 th.

2 - R.N. BARNETT - Clinical Laboratory statistics. Little, Brown and Company Boston 1971.

3 - P. PANALL A. ROSSI - Potassium levels in serum and plasma. Clin. Chim. Act. 1970, 30, 372

4 - Y. WYNN, S. SIMON, R.J.H. MORRIS, IR MAC DONALD AND D.A. DENTON - Med. J. Australia 1950, I, 821.

5 - T. P FLEIDERER, P. OTO and W. HARDEGG - Klin. wschschr, 1959, 37, 39.

6 - L. GIFFORD, S.R. GAMBINO (Columbia Presbiterian Medical Center). New York N.Y. 10032.

7 - L.B. ROBERT - The normal range, with statistical analysis for seventeen blood constituents. Clin. Chim. Act. 1967, 16 (1) 69-78.

8 - G.Z. WILLIAMS, D.S. YOUNG, MR. STEIN and E. COTLOVE, G. SHAKARJI, E. HARRIS, PKANOFSKY - Biological and Analytic components of variation in long term studies of serum constituents in normal subjects Clin. Chem. 1970, 16, 1O16, 1022, 1028.

9 - D.J. BRYAN, J.C. WEARNE, A. VIAU, A.W. MUSSER, F.W. SHOONMAKER and R.E. THIERS - Clin. Chem., 1966, 12, 137.

10 - R.D. ALLEN - New Zealand Méd. J. 1965, 4, 330.

11 - J.A. OWEN and D.G. CAMPBELL - Clin. Chim. Acta 22, 1968 611-618.

12 - D.H. CURNOW - Proc Australian Assoc. Clin. Biochem. 1964, 3, 62.

13 - A.F. MOHUN - A reassessment of normal plasma sodium levels LANCET, 1962, 1, 778.

14 - M.W. O'HALLORAN, J. STUDLEY, RUXTON and M.L. WELLBY a comparison of conventionally devived normal ranges with those obtained from patients results. CliN. Chim. Acta, 1970, 27, 35-46.

15 - H.W. JEANNERET, W. ROSENMUND and W. ESSELIER Helv. med. Acta, 1954, 21, 191.

16 - C. GYLLENSWARD and B. JOSEPHSON Scand. J. Clin. Lab. Invest, 1957, 9, 21.

17 - P.M.G. BROUGHTON, D. SIMPSON, F.L. MITCHELL, C. TOOTHILL and L.G. WHITBY - Clin. Chem. Acta. 1968, 19, 297-311.

18 - SHEGGS HOCHSTRASSER, Clin. Chem., 1964, 10, 918-936.

19 - WALTON H. MARSH and col. Clin. Chem., 1965, 11, 624-627.

20 - JAFFE, M.Z. Physiol. Chem., 1886, 10, 391.

21 - R. JENSEN et M. LABADIE - Les analyses multiples simultanées Ann. Biol. Clin., 1968, 26, 7-9, 957-963.

22 - B. COLOMBIE. La méthode des analyses "séquentielles" son intérêt en clinique hospitalière. Thèse Médecine, Bordeaux, 1966.

23 - R. ZENDER and A. FALBRIARD - Clin. Chim. Acta., 1965 12, 183.

24 - C. DREUX - Quality control in clinical chemistry - Transactions of this IV International Symposium, Geneva, 1971, May 12-14.

25 - D. SCHWARTZ, Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes, 3ème éd. - Editions médicales Flammarion.

26 - N. RADIN - Clin. Chem. 1967, 13, 55-76.

27 - GARCIA, WEBB, SHARP and K.A. PIPER - Clin. Chim. Acta 1969, 24, 51-59.

28 - BRADLEY, E. COPELAND - International Symposium on statistical quality control in the analytical laboratory a Quality Control System for clinical chemistry and its application.
Z. Anal. Chem., 243,754-759. 1968

29 - C. DREUX, J-L. BOUVIER, B. BOUSQUET, J-P. AUBRY
Contrôle de qualité journalier dansun laboratoire de biochimie hospitalier.
Contrôle de qualité des examens de laboratoire Lyon 1971.

30 - M. BAILLY, J-P. BRETAUDIERE, B. CHERRUAU
Contrôle de qualité des examens de laboratoire, SIMEP, éd. 1972 p. 209.

31 - P.M.G. BROUGHTON and W. ANNAN - Measurement of Analytical Precision in Clinical Chemistry
Clin. Chim. Acta, 1971, 32, 433-441.

32 - J.V. STRAUMFJORD et al. Clinical chemistry quality control values in thirty-three university medical school hospitals.
Amer. J. Clin. Pathol. 1965, 44, 252-258.

33 - R.K. GILBERT, M.B.B. CHIR - Analyse of results of the 1969 comprehensive chemistry survey of the College of the American Pathologists.
Amer. Jour of clin. path. septembre 1970 supplément vol. 54.

34 - Evaluation of a 15 Channel Autoanalyseur System (SMA 12 + 3) in a Routine hospital laboratory.
M.D. KAMILLGAL, A. HANOK, T. SAVIGNAND
The Amer. Jour of Clin. Pathol. vol 50 n° 1 - 60-66

35 - B. ROSENLUND - Analysis of survey Results of Creatinine.
Quality control in Clinical Chemistry.
Transactions of the IV, International symposium Geneva 1971, 12-14.

36 - D.B. TONKS, clin. chem. 1963, 9, 217-233.

37 - A.H. GOWENLOCK, P.M.G. BROUGHTON - Z. anal. chem., 1968, 243, 774-780.

38 - D.E. CAMPBELL et W. ANNAN - J. clin. pathol. 1966, 19, 513.

39 - R.N. BARNETT - Ame. J. Clin. Pathol. 1968, 50, 671-676.